

本資料は 年 月 日付で登録区分、  
2001. 6. 6  
変更する。

[技術情報室]

## 地層処分における微生物の影響に関する調査

1992年1月

動力炉・核燃料開発事業団  
東 海 事 業 所

本資料の全部または一部を複写・複製・転載する場合は、下記にお問い合わせください。

〒319-1184 茨城県那珂郡東海村大字村松4番地49  
核燃料サイクル開発機構  
技術展開部 技術協力課

Inquiries about copyright and reproduction should be addressed to:  
Technical Cooperation Section,  
Technology Management Division,  
Japan Nuclear Cycle Development Institute  
4-49 Muramatsu, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki, 319-1184  
Japan

© 核燃料サイクル開発機構 (Japan Nuclear Cycle Development Institute)  
2001

## 地層処分における微生物の影響に関する調査



実施責任者 吉川英樹\* 油井三和\*

佐々木憲明\*

報告者 福永 栄\*\* 朝野 英一\*\*\*

若松 久夫\*\*\*

## 要旨

放射性廃棄物の地層処分では処分環境の変化や核種移行の評価において微生物の存在を考慮する必要があると言われているが、その具体的な挙動や影響については不明な部分が多い。そこで本テーマに関して、地層処分における微生物の挙動や影響に関する情報の整理、研究の現状、今後の課題などについて文献調査を行った。またあわせて関連する学会、講演会および海外の主要な原子力研究機関の研究内容についてアンケート調査を行った。

本調査により、微生物の代謝活動に基づく材料の生物的な劣化、物理的な破壊、ガス生成、地下水の化学的特性の変化および核種の直接取り込みなどの作用が考えられ、それらが廃棄体やバリア材の劣化、処分場の化学的な環境の変化、放射性核種の移行などを通じて処分場の閉込め性能に影響することが明らかとなり研究の重要性が確認できた。また研究の進捗度について世界的な観点からの知見が得られた。

\* : 環境技術開発部 地層処分開発室

\*\* : 石川島播磨重工業株式会社 技術研究所 バイオ技術研究部

\*\*\* : 石川島播磨重工業株式会社 原子力事業部 原燃技術部



Investigation of Microbiological Effect on  
Geological Disposal

PNC Liaison

Hideki Yoshikawa\*

Mikazu Yui\*

Noriaki Sasaki\*

IHI

Sakae Fukunaga\*\*

Hidekazu Asano\*\*\*

Hisao Wakamatsu\*\*\*

### Abstract

Geomicrobiology for the geological disposal of radioactive wastes and the assessment of potential microbial effects on chemical and physical changes in repository environments and nuclide transport have been pointed out to be of cardinal importance. However, the detailed effects of microbes are poorly understood.

In order to study microbial activities in underground and their effects on a repository and to know the recent study status, a literature survey was performed. In addition to this, the current research activities of major research laboratories in the world were investigated. And microbiology related meetings and conferences were also searched.

In the literature survey, biodegradation and physical disruption of materials, gas generation, alteration of ground-water chemistry and the direct uptake of radionuclides were identified as factors which potentially affect the nuclide containment capability of the repository.

And through the search for laboratories and meetings, information on the most recent status of biological study on the underground repository and on conferences related to geomicrobiology were obtained, respectively.

\* Geological Isolation Technology Section,  
Tokai Works (Hideki Yoshikawa)

\*\* Biotechnology and Environmental Engineering Department,  
Research Institute, Ishikawajima-Harima Heavy Industries  
Co., Ltd.

\*\*\*Nuclear Fuel Cycle Development Department, Nuclear Power  
Division, Ishikawajima-Harima Heavy Industries Co., Ltd.

## 目 次

	ページ
まえがき	1
第1章 文献調査	
1.1 概要	
1.1.1 微生物の検討の必要性	3
1.1.2 微生物とは	6
1.1.3 文献調査概要	1 3
1.2 考えるべき環境	3 5
1.3 微生物の存在	3 8
1.3.1 微生物存在の可能性	3 8
1.3.2 微生物の存在の確認	4 8
1.3.3 微生物の種類	6 2
1.3.4 微生物と処分場の関係	6 3
1.4 処分場環境における微生物の活動	
1.4.1 微生物の活動	6 7
1.4.2 放射線の微生物への影響	6 8
1.4.3 微生物の地下環境への影響	7 1

## 1.5 今後の課題

1.5.1 微生物検討の手順について	94
1.5.2 検討対象とすべき微生物について	95
1.5.3 微生物腐食について－地層処分との関係－	95
添付資料・調査文献リスト	104

## 第2章 学会、講演会調査

2.1 原子力関係	
2.1.1 海外	107
2.2 微生物関係	
2.2.1 国内	108
2.2.2 海外	110
2.3 微生物腐食関係	
2.3.1 国内	110
2.3.2 海外	111

## 第3章 研究機関の調査

3.1 概要	112
3.2 調査機関	112
3.2.1 国内研究機関	112
3.2.2 海外研究機関	112
3.3 研究機関の概要とその活動	115
添付資料 3.1・国内研究機関	116
添付資料 3.2・海外研究機関（微生物全般）	120
添付資料 3.3・海外研究機関（微生物腐食）	133

## 第4章 海外研究機関の微生物研究への取組状況調査

4.1 概要	137
4.2 調査機関	137
4.3 調査内容－アンケートの内容－	138
4.4 各国研究機関の取組状況－回答のまとめ－	138
4.5 回答（オリジナル）	138
4.6 その他の資料	139
添付資料 4.1・海外研究機関へのアンケート用紙	145
添付資料 4.2・アンケート回答（オリジナル）・NAGRA	154
添付資料 4.3・アンケート回答（オリジナル）・AECL	158
添付資料 4.4・アンケート回答（オリジナル）・Harwell	168
添付資料 4.5・アンケート回答（オリジナル）・CEA	179

添付資料 4.6・アンケート回答（オリジナル）・Mol	180
添付資料 4.7・アンケート回答（オリジナル）・PNL	181
添付資料 4.8・アンケート回答（オリジナル）・SKB	191
添付資料 4.9・入手資料（Meeting Program）	201

## 表 目 次

	ページ
表 1.1.2-1 エネルギー源、炭素源、水素供与体、水素受容体による微生物のグループ分け（文献 <sup>11) 12)</sup> などより）	1 2
表 1.1.2-2 酸素との関係による微生物のグループ分け (文献 <sup>11)</sup> などより)	1 2
表 1.2-1 極限環境に対する微生物の耐性 <sup>1)</sup>	3 7
表 1.3.1-1 A v r o テスト地のボーリング孔 E V 0 1 での地下水の化学組成 <sup>2)</sup>	4 0
表 1.3.1-2 Hindas n i における 60 m の深さの 対照用井戸水の化学組成 <sup>2)</sup>	4 1
表 1.3.1-3 Stripa 鉱山テスト地のボーリング孔 V 1、V 2 での地下水の化学組成表 <sup>2)</sup>	4 1
表 1.3.1-4 K A V 0 1、K A S 0 2、K A S 0 3、 K A S 0 4、K L X 0 1 の地下水の化学組成 <sup>10)</sup>	4 2
表 1.3.1-5 微生物の増殖にとっての環境条件の限界 <sup>14)</sup>	4 5
表 1.3.1-6 極限環境への微生物耐性 <sup>6)</sup>	4 6
表 1.3.1-7 極限環境への微生物耐性 <sup>9)</sup>	4 7
表 1.3.2-1 Hindas の 60 m の深さの対象井戸の水の全菌数 (N : 全菌数) <sup>2)</sup>	5 6
表 1.3.2-2 ボーリング孔 E V 0 1 での異なる サンプリング場所の影響 (N : 全菌数) <sup>2)</sup>	5 6
表 1.3.2-3 Field labo での全菌数 <sup>2)</sup>	5 7
表 1.3.2-4 E V 0 1 での好気性および嫌気性従属栄養細菌数 <sup>2)</sup>	5 7

表 1.3.2-5 Stripa鉱山のボーリング孔V 1 および V 2 での全菌数 <sup>2)</sup>	5 8
表 1.3.2-6 ボーリング孔V 1 と V 2 での 好気性従属栄養細菌数とカビ(mould) の数 <sup>2)</sup>	5 8
表 1.3.2-7 三つのボーリング孔K A V 0 1、K A S 0 2 および K L X 0 1 での全菌数 (Total no. ) および 生菌数 (viable count) <sup>3)</sup>	5 9
表 1.3.2-8 地下水の120 時間後の全菌数に対する異なる 化学物質添加の影響 (N : 全菌数) <sup>2)</sup>	6 0
表 1.3.2-9 異なる環境下における微生物計数結果の比較	6 1
表 1.3.4-1 埋め戻し材／緩衝材材質中に混入する微生物数 <sup>7)</sup>	6 6
表 1.4.3-1 ラ・アーグ処分サイト土壤の 微生物に関する分析結果 <sup>7)</sup>	8 6
表 1.4.3-2 ビチューメンを含む好気性および 嫌気性土壤の微生物分析結果 <sup>7)</sup>	8 7
表 1.4.3-3 微生物の成長を助けるポリウレタンと エポキシ樹脂の性質 <sup>7)</sup>	8 8
表 1.4.3-4 地球化学における重要な核種 <sup>7)</sup>	8 9
表 1.4.3-5 緩衝材と埋め戻し材中の微生物数 <sup>7)</sup>	9 0
表 1.4.3-6 放射性廃棄物浸出液サンプルからの $^{14}\text{CH}_4$ と $\text{CH}_3\text{T}$ の微生物による生成 <sup>5)</sup>	9 1
表 1.4.3-7 微生物による金属元素の抽出／濃縮 ／回収のメカニズム(1/2) <sup>6)</sup>	9 2

表 1.4.3-7 微生物による金属元素の抽出／濃縮 ／回収のメカニズム(2/2) <sup>6)</sup>	9 3
表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況 －アンケート調査結果－(1/5)	1 4 0
表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況 －アンケート調査結果－(2/5)	1 4 1
表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況 －アンケート調査結果－(3/5)	1 4 2
表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況 －アンケート調査結果－(4/5)	1 4 3
表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況 －アンケート調査結果－(5/5)	1 4 4

## 図 目 次

	ページ
図 1.1.2-1 微生物の構成メンバー（文献 <sup>11)</sup> より）	9
図 1.1.2-2 細菌及び藍藻の細胞の構造 <sup>17)</sup>	10
図 1.1.2-3 A T P の生成とその利用 <sup>11)</sup>	10
図 1.1.2-4 地球化学的窒素の循環 <sup>13)</sup>	11
図 1.1.2-5 地球化学的硫黄の循環 <sup>13)</sup>	11
図 1.3.2-1 対象井戸の微生物個体群に対する酸素の影響 <sup>2)</sup>	59
図 1.4.2-1 5種の生物に対するコバルト60照射の影響	69
図 1.4.2-2 照射量と生存率の関係	70
図 1.4.3-1 閉じ込め機能の破壊と核種移行への微生物の影響 <sup>1)</sup>	81
図 1.4.3-2 生物化学的なウランサイクル <sup>7)</sup>	82
図 1.4.3-3 放射性核種の取り込み、交換の概念 <sup>10)</sup>	83
図 1.4.3-4 微生物による有害金属の変質 <sup>5)</sup>	84
図 1.4.3-5 ウランの化学的、微生物的な浸出プロセス <sup>6)</sup>	85
図 1.5.3-1 硫酸塩の微生物還元における 電子供与体としての有機炭素	101
図 1.5.3-2 好気性と嫌気性のバイオフィルムの形成	101
図 1.5.3-3 金属表面における腐食ポテンシャルの形成	102
図 1.5.3-4 バイオフィルムモデル	102

図 1.5.3-5 軟鋼表面の孔食

103

図 1.5.3-6 軟鋼表面のSRB のコロニー

103

## まえがき

### (1) 本調査の目的

放射性廃棄物の地層処分では、処分環境の変化や核種移行の評価に関して微生物の存在を考慮する必要があると言われている。しかしこれまで処分場を模擬した環境や、さらに放射線の存在を含めて、微生物の挙動や影響を定量的に調査、研究、検討した例はほとんどない。こうしたことから本調査は、地層処分における微生物の影響について、主として文献調査を通して研究の現状、課題などを整理し、今後の研究にそれらを反映させることを目的として実施する。

### (2) 調査内容

地層処分に関連する微生物の活動、影響について基本的な知見を得、あわせて各研究機関の活動状況、情報交換の場などについても情報を得るために以下の項目について調査を実施する。

#### ①文献調査

：添付資料に示す文献について、今後の研究に有用な内容を整理し、研究開発の現状、今後の研究課題などをまとめる。

#### ②学会、講演会の調査

：地層処分に関する微生物について発表、討論する主な学会、講演会、国際会議を調査し、そのタイトル、開催期間、開催地などの基本情報をまとめる。

#### ③研究機関の調査

：微生物による腐食、劣化、環境変化などについて研究、技術開発をしている国内外の代表的な研究機関を調査し、その活動内容をまとめる。

#### ④微生物に対する取組状況の調査

：以下に示す諸外国の研究機関について、微生物に関する研究、技術開発

の状況をアンケートにより調査し、まとめる。

- a. N A G R A (スイス)
- b. A E C L (カナダ)
- c. H a r w e l l (イギリス)
- d. C E A (フランス)
- e. M o l (ベルギー)
- f. P N L (アメリカ)
- g. S K B (スウェーデン)

## 第1章 文献調査

### 1.1 概要

#### 1.1.1 微生物検討の必要性

##### (1) 地層処分と微生物

高レベル放射性廃棄物の地層処分における地球微生物学(Geomicrobiology)は、廃棄物管理における新しい検討分野である。これまで深地層での微生物による汚染は考えられてこなかった。しかし最近では処分材、核種移行、地下水の化学的性質などへの生物地球化学的な影響を考えるべきだといわれている<sup>1)</sup>。これは高レベル廃棄物に限らず中、低レベル廃棄物についても同様である。すなわち、通常我々が考える地中よりも深いところの処分場の環境は従来極限環境としてとらえられ、生物的には不毛の地、無菌と考えられてきた。しかしこれまで行われた研究はもはやこの考え方が正しくないことを示している。

例えば微生物の活動の簡単な例として金属材料の腐食がある。McKinley等によれば、深さ270mから2100mの間の油井ケーシングの破損に微生物が関わっているという。また、英国での地下埋設鋼管の破損において、少くともその50%は微生物によるものとの報告もある。このような例からも微生物は深さにかかわらず地中に存在することが分る。

放射性廃棄物の処分と微生物との関係では、処分孔、岩体そして生物圏という3つの環境を検討対象として挙げているものがある<sup>4)</sup>。例えば処分孔の環境条件とは、現場の地下水の塩分濃度と緩衝材-埋戻し材の化学的な性質によって地下水の性質が影響を受け、これが微生物の活動に関係していくというものである。一方処分体自身は処分環境が微生物の活動によって変化することから様々な影響を受けるといわれている。それは微生物の代謝活動に起因するもので、最終的には直接あるいは間接的に核種移行の挙動に影響を与える<sup>1) 4) 5) 7)</sup>。その例としては、材料の生物的な劣化、地下水の化学的性質の変化、核種の直接的な取り込み、および金属の酸化被膜の物理的破壊などがある<sup>1)</sup>。あるいは地下水の酸化還元条件の変化、ある元素のキレート化合物の生成、金属元素の錯体の生成などが核種移行に関係するとの報告もある<sup>4)</sup>。

一方処分場に存在する微生物は浅地層、深地層に関わりなく2通りの由来がある<sup>1) 4)</sup>。元からそこにいる土着のもの(Autochthonous, Resident, Indigenous)と外部から持ち込まれた外来性のもの(Allochthonous, Introduced)である。特に建設器材、あるいは緩衝材、埋戻し材と一緒に微生物が外部から処分場に持ち込まれることが十分考えられ、その影

響、あるいは処分場閉鎖後にそれらが生き残るかといった問題になると検討は複雑になってくる<sup>1) 4) 7)</sup>。

しかしこれまでに廃棄物処分とからめて微生物の問題が十分に研究されて来たわけではない。問題となる事象がリストアップされただけで、研究によって解答が得られていないものがほとんどである<sup>1)</sup>。実際に数100mの地下から地下水を採取し、その中の微生物の数（全菌数、生菌数）を調べた例はある<sup>2) 3)</sup>。これによるとスウェーデンの地下400mから800mの花崗岩の地下水1ml中には全菌数で $10^5$ オーダー、生菌数で $10^3 \sim 10^4$ オーダーの微生物がカウントされている。地下水の採取方法、微生物のカウント、同定方法など参考になる点が多いが放射性核種との関係は今後の研究を待つ必要がある。

## (2) 検討の必要性

以上のように見えてくると、廃棄物処分の環境、あるいは処分体自身に影響を及ぼすことが考えられる微生物が地中に存在することを示唆する報告が多数認められる。しかし、その活動や影響は一部が定性的に考察されている段階であり、今後それらの内容を一層明確にしていく必要がある<sup>1) 4) 5) 7)</sup>。

ここで検討しようとする問題を整理すると、それは大きく次の2つに分けられる。すなわち、

①微生物は地層中（天然の地層と処分場としての地層）に存在するか？

②存在するとすれば最終的に核種移行にどの様な影響を及ぼすか？

ということである<sup>4)</sup>。

①に関係することは例えば、

a. 外部から持ち込まれた微生物は処分場閉鎖後生き残るか？

b. 放射性廃棄物処分場という極限状況は原住の微生物と持ち込まれた微生物にどのような影響を及ぼすか？

ということであり、また②については、

c. 微生物は処分場の環境をどう変化させ、人工バリアの構造、構成、あるいは

は核種放出とその移行にどのような影響を持つのか？

という言い方もできる。

一方これらとは違った観点からの興味として、

d. どのような研究が現在進められていて、今後解決すべき問題はなにか？

というようなテーマも、調査、研究の始めに当って出てくる。<sup>1)</sup>

このように研究の始めに当たって疑問点を整理し、これに答えられるものにはできるだけ答えを得て、その後の研究に役立てることが重要である。我々がここでやろうとしていることは正にこれであり、今回の調査の位置付けもここにある。

### 1.1.2 微生物とは

微生物（microorganisms）という言葉は、一般に、小さすぎて肉眼でははっきりと認識できない生物、即ち直径1 mmまたはそれ以下の生物<sup>1)</sup> というややあいまいな意味で使われる。分類学的用語ではない。

しかし微生物というグループを構成するメンバーを見てみると、いくつかの分類学上のグループ（その中には褐藻のコンブのようにとても微生物と言えないものも含まれるが）と対応している（図 1.1.2-1）。更に、これらの分類学上のグループは、「比較的単純な生物学的体制」という共通の性質を有しており、かつ動物と植物の中間的な性質を示す（例えば、一部の藻類と原生動物は光合成をするという植物的性質と運動能力を持つという動物的性質を合せ持つており、菌類は光合成の能力も運動能力も持っていない）点でも共通している。Haeckel はこれらの分類学上のグループを動物界、植物界と分けて原生生物界としてまとめている<sup>1)</sup>。こう考えると微生物は、進化学的に古い、即ち生物の系統が動物と植物に分かれる前から地球上に存在した、動物と植物の祖先にあたる下等な生物群というようにも解釈できる。

微生物について、抗生素質ストレプトマイシンの発見者でありノーベル医学・生理学賞の受賞者でもある著名な微生物学者のWaksman 博士は次のように述べている。「工業だろうが、農業だろうが、衣食住の問題についてだろうが、人および動物の健康維持と病気との戦いについてだろうが、ともかく人の力の及ぶ所で、微生物が重要で、そしてしばしば主要な役割を果たしていない所は無い。Salman Waksman 1942」<sup>2)</sup> 例えば、ビールや日本酒は微生物の1グループの酵母の生産物だし、動植物の遺骸を分解して土に戻すのも、石油を作り出したのも、人間の汚水を浄化するのも、魚の成長のための餌となるのも、牛の胃の中で牧草を分解するのも微生物である。一方、人間に必要な食糧や各種素材を腐敗、劣化させたり、人間や人間にとて重要な動植物の多くの病気を引き起こすのも微生物である。即ち微生物は善悪両面で人間社会に深いかかわりを持っている。

微生物は、土中、水中、空气中、動植物などの表面から、人の口の中や腸の中まで、殺菌の機構が備わっていない地表のあらゆる所に存在し、また移動する。そういう微生物に関する知識が全く無く、その為すがままになっていた時代から、17世紀の顕微鏡の発明、19世紀の、発酵や病気が微生物によるこのPasteur やKochによる発見・実証、そして20世紀の生物学の驚くべき進歩を経て、現代は、微生物の良い面をいかに活用し人間に害となる面をいかに抑えるかという微生物コントロールの時代に入ったと言えよう。

ウィルス (virus) を除く微生物は、他の生物（動物、植物）と同じく、細胞というサブユニットにより構成されている。しかし一般の微生物は動物、植物と異なり、一つの細胞から成る、即ち単細胞性である。代表的な微生物である「細菌 (bacteria)」および「藍藻 (blue green bacteria または blue green algae)」の細胞の構造は図 1.1.2-2に示される。細胞の大きさは  $1 \sim 5 \mu\text{m}$  程度で、細胞内と外界の間の物質移動を調節する細胞膜に包まれている。微生物は、次の二つの重要な機能を持つ。

### (1) 物質代謝 (metabolism)

生体内で行われる物質の化学変化をいう。この化学変化は、触媒として働く様々な酵素の特異的な組み合わせによって進められる。物質代謝は、外界から取り込まれた簡単な化学物質から微生物細胞の維持や増殖に必要な巨大分子を合成するプロセス（生合成）と生合成過程を動かす高エネルギー物質（具体的にはアデノシン 3' リン酸 = ATP）を生産するためのプロセス（ATP の生成、異化）から成る<sup>11)</sup>。ATP の生成には外界から化学エネルギーの高い物質を取り込み、それを、化学エネルギーのより低い物質へと化学変化させ、そこから得られる化学エネルギーの差を ATP に捕捉することが必要である。外界から取り込む化学エネルギーの高い物質をエネルギー源 (energy source) と言う（図 1.1.2-3 参照）。エネルギー源および ATP 生成の最終生産物（代謝産物）は微生物のグループによって異なり、それによってグループ分けができる。また ATP の生成はトータルとして酸化還元反応であることが多いので、エネルギー源を水素供与体 (hydrogen donor) あるいは電子供与体 (electron donor) として表わせるが、それと水素受容体 (hydrogen acceptor) とで微生物のグループが更に細分化できる（表 1.1.2-1）。微生物の酸素への耐性によってもグループ分けが可能である（表 1.1.2-2）。各グループの微生物が増殖できる環境条件は異なっている。また硝化細菌や脱窒細菌が地球化学的窒素の循環（図 1.1.2-4）に、硫黄酸化細菌や硫酸塩還元細菌が地球化学的硫黄の循環（図 1.1.2-5）に寄与するように、環境に与える影響もグループごとに異なる。従って、微生物と環境との相互作用を検討する上で、これらのグループ分けは極めて重要である。

### (2) 遺伝情報の伝達と複製

個々の生物の性質を決める遺伝情報は、細胞内の DNA (デオキシリボ核酸) に 4 種類の塩基の配列順序による暗号として保存されている。この塩基配列の暗号は他の核酸に伝

達され、その暗号に応じた蛋白質合成にむすびつき、最終的に生物の性質を決める。またDNAには、同じものをもう一つ作るという複製の機能がある。

それらの結果として、細菌および藍藻の一つの細胞は条件が整えば二つの細胞に分裂し、分裂後の細胞は親と同じ体制と機能を持つ。即ち、増殖および遺伝という現象が起きる。

このほか今回の調査に特に関係があると思われる次の二つの細胞内構造について、その機能を紹介しておきたい。

(1) 細胞壁、鞘、カプセル、スライム

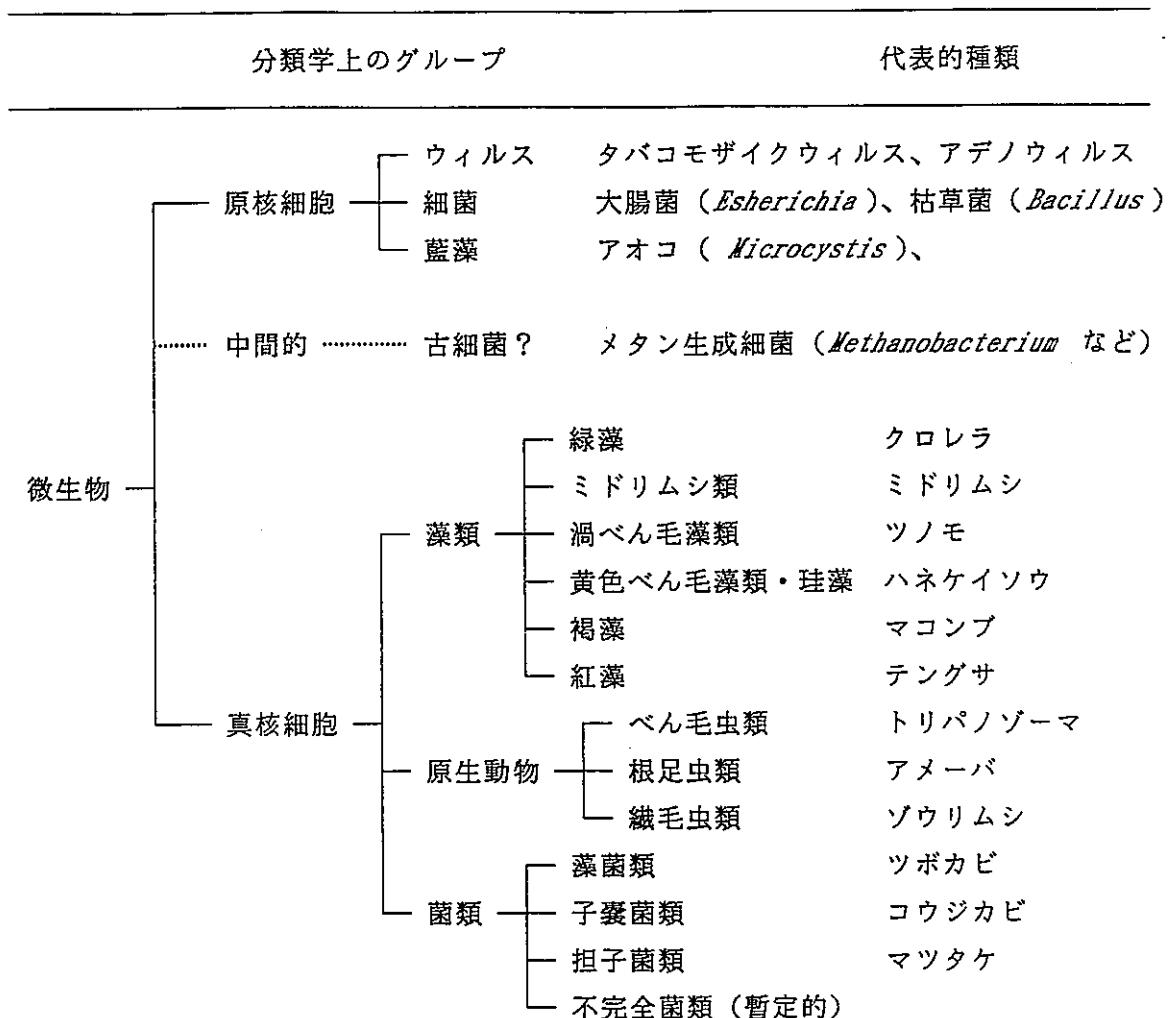
これらは、細胞膜の外側に作られる構造である。細胞壁が細胞の形の保持等の機能を持つ、ほか、これらは細胞の固体表面などへの付着や溶解性物質を吸着する機能と関係すると考えられる。

(2) べん毛

一部の細菌が持っており、水中での化学物質などの刺激に反応しての運動を可能にしている。

以上、細菌および藍藻の細胞について概説したが、他のグループの微生物もおおむね同様の機能を最低限有している。ただし、より複雑な構造を持っていたり細胞が大きかったりする。

地中で最も重要な微生物は、現在のところ細菌と考えられ、更に菌類やウィルスがこれに加わる。

図 1.1.2-1 微生物の構成メンバー（文献<sup>11)</sup> より）

注) 生物界は原核細胞（核の無い細胞）と真核細胞（核を持つ細胞）に二分される。動物と植物はすべて真核細胞であり、微生物は両者から構成される。

古細菌の位置づけについては議論がある。

生物の分類は、門、綱、目、科、属、種と細分化していくが、生物の種類は通常、属名と種名の組み合わせで表現される。例えば、大腸菌の属名は *Escherichia*、種名は *coli* であり、*Escherichia coli* と記述される。*Escherichia sp.* などは、属名は *Escherichia* だが種名が特定できない生物を表わす。

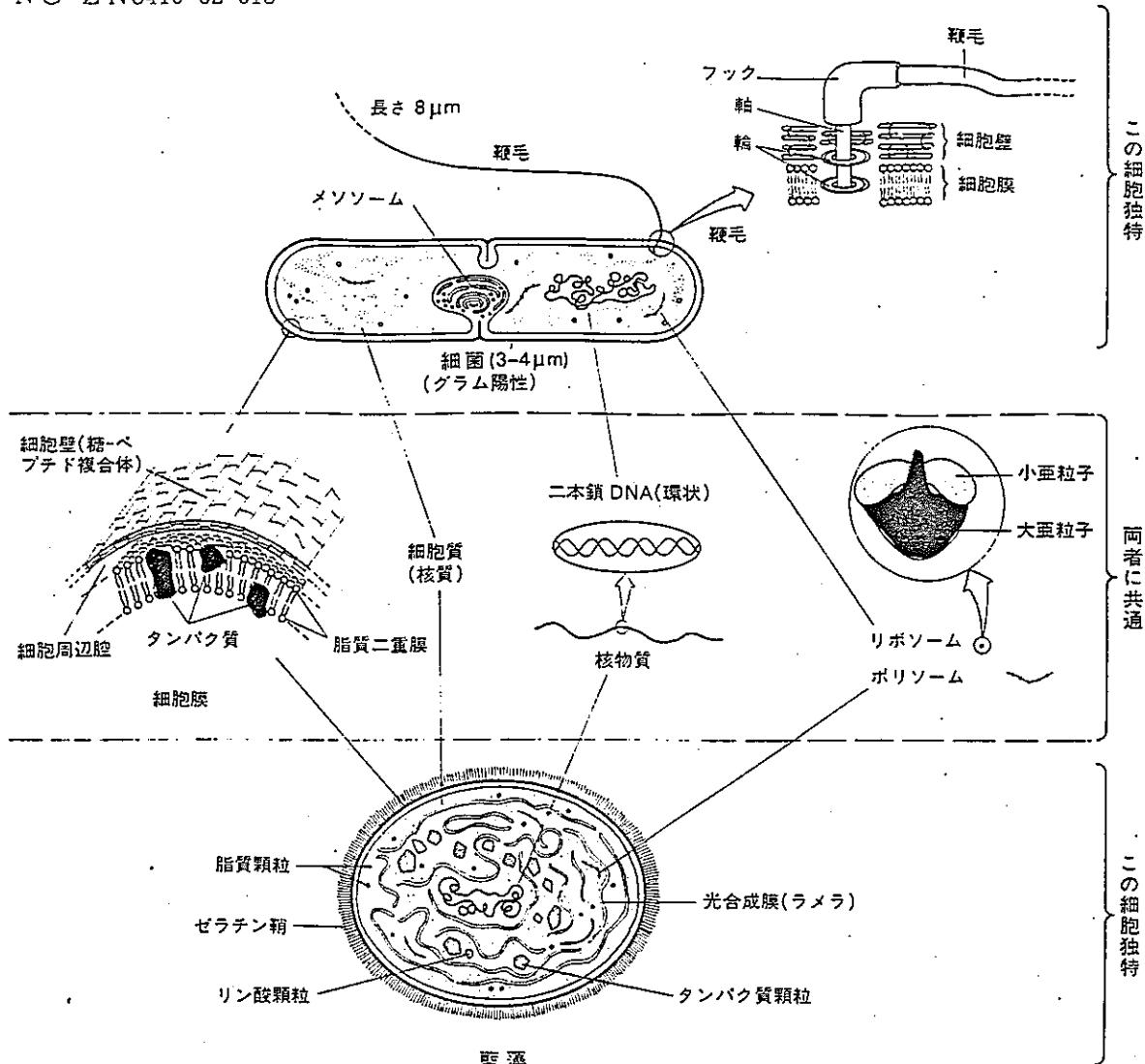


図 2.1

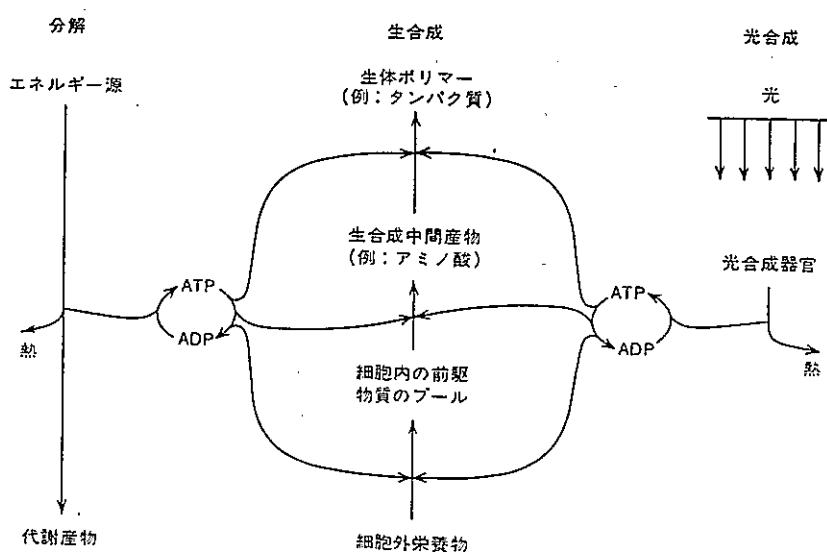
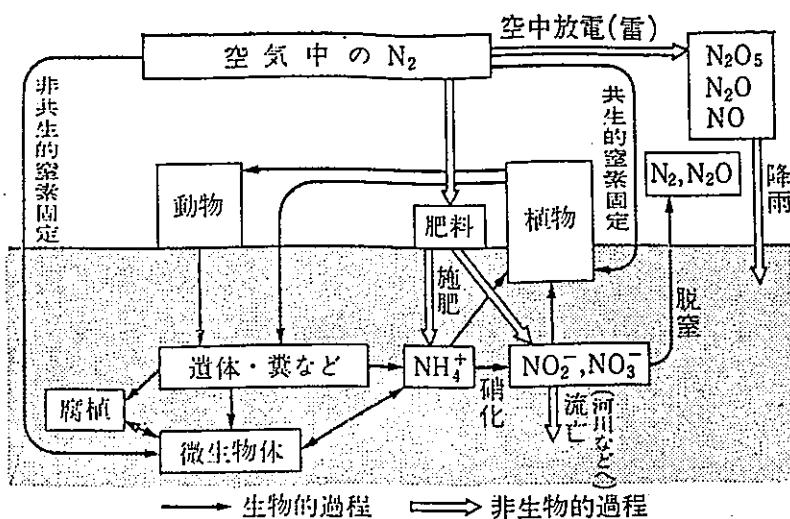
図 1.1.2-2 細菌および藍藻の細胞の構造<sup>17)</sup>

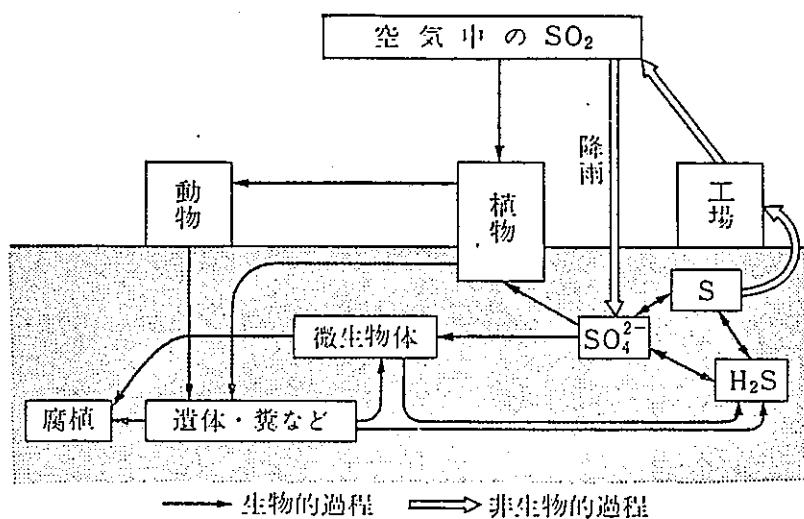
図 6.2

図 1.1.2-3 ATPの生成とその利用<sup>11)</sup>



第31図 大地をめぐる窒素元素の循環

図 1.1.2-4 地球化学的窒素の循環<sup>13)</sup>



第32図 大地をめぐるイオウ元素の循環

図 1.1.2-5 地球化学的硫黄の循環<sup>13)</sup>

表 1.1.2-1 エネルギー源、炭素源、水素供与体、水素受容体による微生物のグループ分け（文献<sup>11)</sup> <sup>12)</sup>などより）

エネルギー源	炭素源	水素供与体	水素受容体	代謝産物	代表的生物	
光合成独立栄養生物 (phototroph)	光	CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	高等植物 藻類 光合成細菌
光合成従属栄養生物 (photoheterotroph)	光	{ 有機物 CO <sub>2</sub> }	有機物	CO <sub>2</sub>		光合成細菌
化学合成独立栄養生物 (chemoautotroph または chemolithotroph)	化学物質	CO <sub>2</sub>	{ NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> H <sub>2</sub> { H <sub>2</sub> S, S, S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , Fe <sup>2+</sup> }	{ O <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	{ NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> H <sub>2</sub> O { S, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Fe <sup>3+</sup> }	硝化細菌 水素酸化細菌 硫黄酸化細菌 鐵酸化細菌
化学合成従属栄養生物 (chemoheterotroph)	化学物質	有機物	有機物 有機物 有機物 有機物	O <sub>2</sub> { NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> } SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> { 有機物, CO <sub>2</sub> , CH <sub>4</sub> }	CO <sub>2</sub> N <sub>2</sub> H <sub>2</sub> S { 有機物, CO <sub>2</sub> }	好気性従属栄養細菌 脱窒細菌 硫酸塩還元細菌 発酵微生物 メタン生成細菌

表 1.1.2-2 酸素との関係による微生物のグループ分け（文献<sup>11)</sup>などより）

	性質	代表的生物
好気性生物 (aerobe)	酸素の存在下でのみ増殖できる。	硝化細菌、水素酸化細菌、硫黄酸化細菌 鐵酸化細菌、好気性従属栄養細菌
通性嫌気性生物 (facultative anaerobe)	酸素を利用する場合は利用して増殖するが、酸素なしでも増殖できる。	脱窒細菌、発酵微生物
偏性嫌気性生物 (obligate anaerobe)	酸素を利用した増殖ができない。	発酵微生物、メタン生成細菌 硫酸塩還元細菌

### 1.1.3 文献調査概要

調査した文献および参考とした図書を添付資料の文献リストに示す。今回調査の対象としたのはこの内の最初に示す海外文献10件である。

以下にこの10件について、目的、実施内容、結果などの概要を簡単にまとめる。

### 文献 1)

『The Geomicrobiology of Nuclear Waste Disposal』, J. M. West et al, Institute of Geological Sciences, Sci. Basis Nucl. Waste Mgt. 7, 1984

#### 1. 目的

高中レベル廃棄物の地下100m以上の深地層処分場での微生物の活動状況の調査を、

- ①深地層中に微生物は存在するか？
- ②外来性（外から持ち込まれた）微生物は生き残るか？
- ③処分場という極限状況は微生物にどのような影響を及ぼすか？
- ④微生物は人工バリアの構造、核種移行にどのような影響を及ぼすか？
- ⑤現在行われている研究と今後考えるべき課題は何か？

といった疑問点から文献調査を通して整理する。

#### 2. 実施内容

これまで、廃棄物の処分場となる深地層は、生物的に不毛の地で、微生物の影響はほとんど考えられていなかったが、最近の研究はこの考え方が正しくないことを示している。

まず地中に穴を掘ること自体が地下環境を汚染する、つまり外から微生物を持ち込むことになり、これは避けることができない。そして土着、外来の両微生物を識別することも難しい。

また地下では微生物は冬眠状態で存在するので、サンプリングされた微生物を地上で培養しても、地中における真の活動に関しては情報を得られない。光の無い地中での微生物の活動に必要な栄養源としては以下のものがあり、これらが微生物の存在数に関わっている。

- ①炭素源 : 溶存有機物、炭酸塩、溶存二酸化炭素
- ②電子供与体 : 溶存水素、メタン、 $\text{Fe}^{2+}$
- ③電子受容体 : 溶存酸素、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$

処分場という極限状況について微生物の耐性をまとめる（表1.2-1 参照）。深地層は微生物にとって決して生存の限界を越えたものではない。

処分場での微生物の活動は油田、鉱山の経験から考えて、直接あるいは間接的に処分容器を破損させたり、核種移行に関係する（図1.4.3.-1）。考えられるものは、

- ①材料の生物的劣化。
- ②地下水化学組成の変質。
- ③放射性核種の直接取り込み。
- ④物理的な破壊。

といった作用である。

### 3. 考察

(1) -⑤の疑問については明確に『廃棄物地層処分に関する微生物の研究は現在（1984年）ほとんどない』といえる。そしてここで述べてきた問題点には解答が成されていない。

英國以外の国で研究計画があるのは以下の通り。

- ①カナダ：文献調査、核種移行研究、埋め戻し材の研究。
- ②フランス：主として土着の微生物の研究
- ③スウェーデン：主として中レベル廃棄体材料に関する研究。
- ④スイス：生物エネルギー理論
- ⑤アメリカ：低レベル廃棄物関連。

### 4. 英国地質学会の研究計画

IGS \* は最近微生物の活動を確かめるための2年間のプログラムを開始した。その内容は、環境因子への影響、核種吸着における役割、地下水と処分場構成材料への影響などについてである（次ページ添付図参照）。またこのプログラムに先立って、文献調査および処分孔、鉱山の調査を行って土着、外来の微生物の分離と同定を行っている。問題点は、無菌条件でサンプリングすることが難しいのと、それゆえ土着、外来の2つのグループに分けることが難しいので培養が複雑になることである。

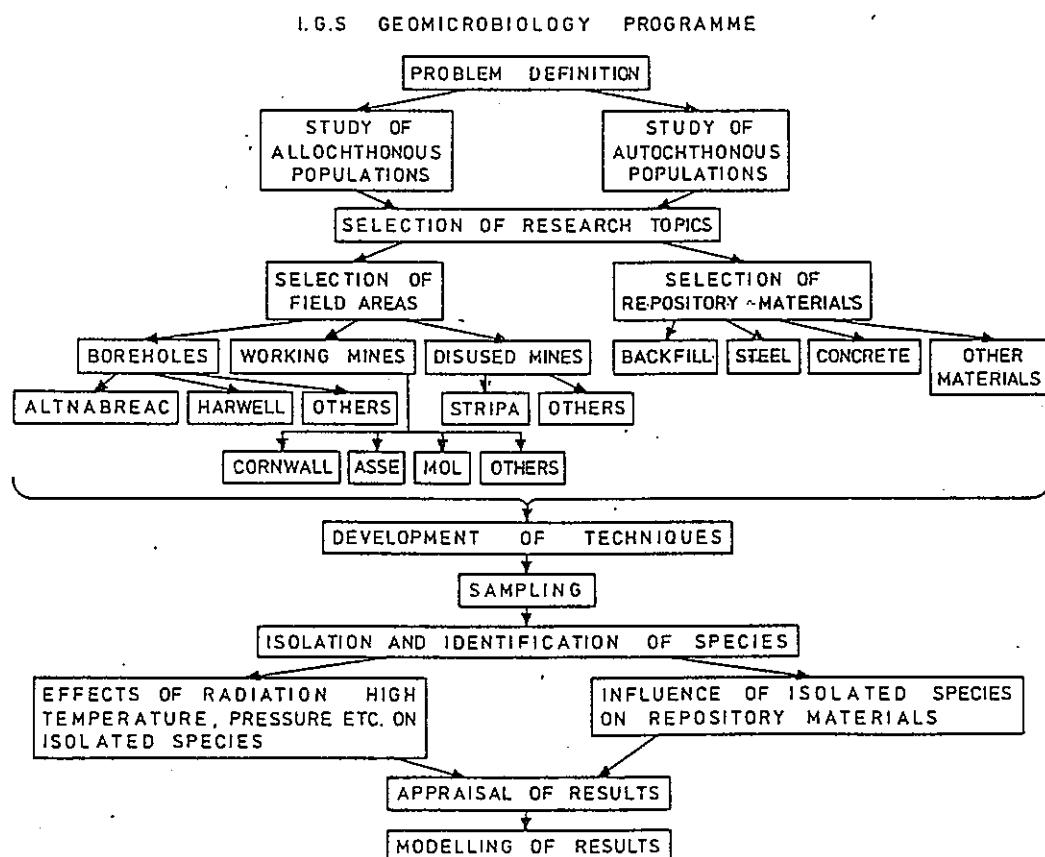
### 5. その他

放射性廃棄物の閉じ込めへの微生物の影響に関する情報は不足しており、世界中の研究者が同じような状況に在る。しかしこのような理由によりこの研究テーマは世界的な協力

を行うのにふさわしい。

- ①このテーマが斬新であって世界的な経験が不足している。
- ②多くの研究が望まれる世界（研究対象）であること。
- ③予算的には比較的安価であること。
- ④少数の研究者が実際の仕事の調整に直接接する。

\* IGS : Institute of Geological Science



文献2)

『Preliminary Investigations of Deep Ground Water Microbiology in Swedish Granitic Rock』 K. Pedersen, SKB T/R 88-01, 1987

1. 目的

地下水微生物の研究は始まったばかりで、地下の微生物の生息についてはほとんど知られていないが、様々な微生物が様々な環境に示す並外れた順応性を考えると、地下での微生物の存在が予想される。地下水中の微生物は解放された放射性核種を吸着し輸送するので、廃棄物の深地層処分場のモデリングにおいては微生物の影響を考慮しなければならない。

そこで、微生物とスウェーデンの高レベル廃棄物処分場の間で起こり得る現象を検討するプロジェクトの計画を支援するデータを集めるための研究を行った。

2. 実施内容

3つのテストサイトで地下水を採取し、化学組成、微生物数を測定した。

(1) テストサイト

- ①参考井戸 : 深さ60m
- ②処分孔(Avro): 635m, 558m, 522m, 420m の4レベル。ボアホールゾンデ、ガスサンプラーを使用。
- ③ストリバ鉱山（配管材が微生物を持ち込まないかの確認に使用）

(2) 分析項目

- ①化学組成：処分孔(Avro)とストリバ鉱山については文献値あり。参考井戸は実測した。

(3) 微生物数の測定

- ①全菌数：AOOC染色法
- ②好気性有機従属栄養菌：プレートカウント法
- ③嫌気性有機従属栄養菌：プレートカウント法
- ④通性嫌気性のThiobacillusのMost Probable Number: MPN-Technique による

(4) 地下水中で微生物数を制限する因子

①酸素

②電子受容体とエネルギー源

3. 結果

(1) 地下水化学組成

各テストサイトの地下水についてpH, Eh, TOC, 溶存酸素、主要元素濃度、硝酸、硫酸、炭酸イオン濃度などを測定した。

(2) 地下水中で微生物数を制限する因子について

①酸素：酸素の供給によって微生物数（全菌数）が増加した。

②電子受容体とエネルギー源：120時間後の地下水中の全菌数に対する様々な化学物質添加の影響を調べた。

(3) 全菌数

フィールドラボでの全菌数を測定した（表1.3.2-3 参照）。浅いところほど菌数は多かった。

(4) 好気性有機従属栄養菌と嫌気性有機従属栄養菌の数

2つの培地で培養した両者の数を測定した（表1.3.2-3 参照）。ガスサンプラーを除いて全菌数より100倍ほど少なかった。

(5) *Thiobacillus*の菌数測定にはMost Probable Number Techniqueが用いられた。

4. 考察

(1) サンプリング

安定した化学組成の地下水はある安定した微生物の数量を示している。サンプリングのための配管による微生物的な汚染が考えられる。また、サンプリング装置によって微生物数が2桁程異なった—Borehole Sond, Gas Samplerによる微生物数はField Lab.によるものより100倍多かった。こうしたことは今後検討されるべきである。

(2) 微生物数のカウント

全菌数は有機従属栄養菌（生菌数）より約100倍多かった。これはには①使用した培養基ですべての微生物が成育するとは限らないこと、②フルオレッセンを使う方法が微生物

の生死を区別できない、という理由がある。MPN Technique(Most Probable Number) はどのくらい正確にある種の微生物をカウントできるかの例であるが、存在が予想される微生物の確認には有用な方法である。

### (3) 深地層地下水中の微生物

深地層地下水中には有機栄養素は非常に少ない。従って土着の微生物の存在は貧栄養そして／あるいは化学合成代謝に基づくと考えられる。またいくつかのグループの微生物は、無機還元エネルギー源、二酸化炭素、無機電子受容体、無機塩に依存している。そしてこれらの微生物が有機従属栄養菌が必要とする有機物を生産する。ドリル時に使われる液体やボアホールの地表水との接触からは、観察される微生物が土着のものか外来性のものかという問題が生じる。そして処分場の建設は新たに微生物を持ち込むか、どちらの微生物によってなにが生じてどのような活動が考えられるのかといった重要な問題が出てくる。

### (4) 深地層地下水中での微生物の活動

微生物の生育には成長に必要なもの、つまりエネルギー源や電子受容体などが必要である。例えば、わずかな量の有機栄養物が得られると嫌気性有機従属栄養菌は迅速に成長を始める。処分場は明らかに岩体中の環境を変化させるが、重要なことはこの変化が土着のそして外来性の微生物の活動にどのように影響するかということであり、またこの活動が処分場と核種移行のプロセスにどのような影響を及ぼすかということである。

### (5) 検討すべき課題

- ①スウェーデン花崗岩中の地下水中の微生物の数、種そしてその活動に関するデータの収集。
- ②処分場と成長する微生物との間の相互作用のモデル化（実測データを使用し、埋め戻し材と微生物との相互作用を考慮する）。
- ③微生物による核種移行の効果のモデルを使った検討。

文献3)

『Deep Ground Water Microbiology in Swedish Granitic Rock and it's Relevance for Radio-Nuclide Migration from a Swedish High Level Nuclear Waste Repository』 K.Pedersen, SKB T/R 89-23, 1989

## 1. 目的

高レベル放射性廃棄物の深地層処分における微生物による核種移行の安全性を確かめるには次の3つの点を解決すべきである。

- ①スウェーデンの花崗岩地下水中の微生物の数、種および活動内容に関するデータ収集。
- ②処分場と微生物の相互作用に関するモデルの確立。
- ③微生物が関与する放射性核種の移行のモデルによる検討。

今回は①と③について実施した。

## 2. 実施内容

3つのボアホールで地下水を採取し、化学組成、微生物数を測定した。

### (1) サンプリング装置

移動式のフィールドラボが地下水のサンプリング、微生物のカウントに使用された。外乱のないサンプルを取るためにガス分析のためのサンプラーを用いた。これは地表から開閉でき、地下水が空気と接触することなく、また採取先の圧力を維持したまま地表に回収できるものである。

### (2) テストサイト

地下水を採取したのは次の3つのボアホールである。

- ①Avro : 420, 552, 558, 635m の4ヶ所（ボアホール：AV01）。
- ②Aspo : 202, 463, 860m の3ヶ所（ボアホール：AS02）と129m  
(ボアホール：AS03) の1ヶ所。
- ③Laxemar : 272, 463, 680m の3ヶ所（ボアホール：LX01）。

### (3) バクテリアのカウントと同定

次の方法で行った。

#### (3-1) カウント

①全菌数：染色法（AOOC法～アクリジンオレンジを用いた染色法）

②生菌数（通性嫌気性有機従属栄養菌）：プレートカウント法。

#### (3-2) 分離と同定

①通性嫌気性有機従属栄養菌：上記②の方法による。

②絶対嫌気性細菌：無酸素鉱物培養基を使用。

#### (3-3) 微生物の活動に関するマイクロオートラジオグラフ

地下水中の個々の微生物の基質の取り込み活動の観察にMARGE-E 法を利用した。

#### (3-4) バクテリアによる核種の取り込み

分離したバクテリアを培養し、遠心分離法で採取して、グラム陰性菌とグラム陽性菌の希釈液をPm（プロメチウム）の溶液と混合してその取り込み状況を観察した。

## 3. 結果

### (1) バクテリア数

各サンプルの全菌数と生菌数を測定した。平均の全菌数は $3 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ であった。

### (2) バクテリアの分離と同定

4種のバクテリアが分離、同定された。また培養温度に対する成長速度を測定した。

### (3) バクテリアの核種の取り込み

核種の取り込みに関する実験は本文献執筆時に進行中である。放射性核種：Pmの取り込み挙動は次の3項目に依存すると考えて実験を行っている。

①pH

②バクテリア数

③バクテリアの種類

### (4) 地下水組成

実験に用いたすべての地下水の化学組成を分析した。

#### 4. 考察

##### (1) バクテリアの生態学

###### (1-1) 硫酸塩還元菌

地球上で最古のバクテリアのひとつ。鉱物や岩石中のイオウの同位体分離によってこの菌の活動は30億年前に遡る。硫酸塩還元菌は、有機物の嫌気性の酸化において、硫酸塩を電子受容体として利用する。従って自然界環境に多量の硫化物を生成、蓄積し、鉱床の生成と変質に関与している。純水培養菌は成長のために培養基中に酸素がないことだけではなく、0 ~ -100mV程度の低い酸化還元電位であることが必要である。

###### (1-2) メタン生成菌

メタン生成菌は嫌気性代謝の主要生成物として、炭化水素、メタンなどを生成するユニークなものである。例えば、強い嫌気性条件下で水素分子といっしょに二酸化炭素を還元してメタンを作る。あるものはギ酸、メタノール、メチルアミン、アセテートといった単純な物質からメタンを作る。

###### (2) バクテリアの自生地としての地下水

地下水の分析結果より、硫化水素とメタンの存在が確認され、硫酸塩還元菌とメタン生成菌の存在が示された。ただしメタンの生成は硫酸塩の濃度が非常に低くなった場合にだけ生じるものである。現在は、調査対象の地下水中の大部分のバクテリアは非常にゆっくりした成長速度の硫酸塩還元菌とメタン生成菌からなっている、と仮定している。

文献 4)

『Microbial Mediation of Radionuclide Transport - Significance for the Nuclear Fuel Waste Management Program』 D. R. Champ, AECL, 1984

1. 目的

高レベル放射性廃棄物の深地層処分の長期的評価では、核種の移行と輸送をモデル化したコンピュータコード（例えばSYVAC）が部分的にその役割を担うが、それには核種移行に関するすべてのプロセスが含まれていることが必要である。一方微生物が触媒的に作用するプロセスは地下水の化学的性質をかなり変化させ、また多くの元素の化学形態と移動特性を直接、間接的に変化させる。こうしたことから、NFWMP(Nuclear Fuel Waste Management Program)では、次の点に关心を持った。

- ①微生物はNFWMP にとって重要な核種について、その移行を大きく変化させるか？  
もしそうなら、  
②NFWMP の概念構築に対して有用な解答を得るのにどのような実験が提案できるか？  
ここでは総合的な文献レビューは行わないが、1番目の質問への解答として考えるべき生物、物理、そして化学的要因について検討する。

2. 検討内容

(1) 環境区分

地層処分の環境区分は、処分孔(Vault), 岩体(Rock Mass)、生物圏(Biosphere) の3つになる。

- ①処分孔(Vault) : 処分孔における地下水の地球化学的な条件は、現場の水の塩分と緩衝材-埋め戻し材の化学的性質の2つによって支配されている。  
②岩体(Rock Mass) : 岩体については典型的な地球化学的な条件はない。しかし、なにか極端なものがあるかもしれない。  
③生物圏(Biosphere) : 生物圏では3つの酸化還元ゾーン(Redox Zone)によって特徴づけられる。酸化還元バリア(Redox Barrier)における汚染物質の蓄積による放出域(Discharge Zone)が考えられ、また不飽和域(Un-saturated Zone)を通じて自生植物へつながる最も可能性の高い経路が考えられる。

## (2) 微生物の存在

3つの環境区分について、つぎの疑問が生じる。

- ①微生物が浅地層に存在することを予想させる理由があるか？
- ②もしいるのなら、微生物は放射性核種の移行を直接的、間接的に変化させるか？

これらの疑問に答えようとしていくつかの文献調査がなされたが、実験データの不足からいづれも推測の域を出ていない。しかし微生物の活動に関与する物理的、化学的な条件の幅とそして、多くの元素の移動度を変化させる微生物の反応、プロセスについて検討しており、微生物は考慮すべき期間を通して、処分孔から生物圏にわたって存在するであろう、というのが始めの問い合わせに対する答えである。

微生物の作用は処分孔、岩体、生物圏中に存在する事実上すべての条件下で知られている。例えば、高温と低温、極端なpH、高圧、嫌気性雰囲気と好気性雰囲気、高い塩分濃度などである。放射線の存在は特に処分孔における特徴であり、高い放射線の線量と高温の組み合わせはほとんどの微生物を死滅させるかもしれないが、離れたところでは生存する。また、放射線に対して抵抗力を持った微生物がいることが知られている。さらに、変異や順応といった微生物の能力がある。また、土着(Indigenous)の微生物と外来性の微生物(Introduction)がいる。

## (3) 微生物の作用

核種移行に関連する微生物代謝の直接的、間接的な効果がたくさんある。それらは、

- ①酸化還元条件の変化
- ②元素のキレート化
- ③代謝による金属元素との錯体(Metal Complexing Agent)の生成
- ④物理的輸送・1 (核種の微生物への吸着)
- ⑤物理的輸送・2 (埋め戻し材への微生物への吸着)
- ⑥埋め戻し材、岩体の吸着特性の変化
- ⑦材料の空隙への増殖と空隙の充填
- ⑧表面活性剤の生成
- ⑨処分孔材料の劣化
- ⑩ガス生成

微生物の核種移行に関するデータはほとんどないが、PuとAmの移行、Maxey Flats のトルンチでの核種移行などは、その可能性を示すものである。ウランについては比較的例が多く、石炭紀、白亜紀のウラン鉱床は独立栄養菌と従属栄養菌が酸化剤あるいは還元剤を作つてウランの溶解、堆積に関与している。その他、ラジウムの吸着、Pu, Am, Cs, Sr の微生物の介在によるコロイド輸送、などが調べられている。

このようなことから、最初に示した②の質問に対しても、

- ①様々なプロセスに介在、関与する特定の微生物の分析。
- ②放射性核種の移動に影響を及ぼす特定のプロセスの発生に関するテスト。
- ③生物化学的な環境を模擬した代表元素の移行テスト。

が挙げられる。

#### (4) まとめ

処分孔からの重要な核種の移行に対して、微生物がかなりの変化を与えるということを、今手にできるデータは十分に示してはいない。しかし今ある情報や生物化学的な能力を考えるとそれは十分有り得ることである。そこでアクチニド元素、ラジウム、よう素そしてテクネチウムについて実験をするべきである。地球化学と生物化学が具体的にリンクしていることを考えて、ブラックボックス的な実験的アプローチがいいかもしれない。まず重要な効果を探して、それから特定の原因を明らかにするのが賢明である。

文献 5 )

『Anaerobic Microbial Transformations of Radioactive Wastes in Subsurface Environments』 A. J. Francis, Brookhaven National Lab., 1984

1. 目的

放射性の有無に関わらず廃棄物の地層処分で心配なことは、放射性核種、有毒金属あるいは有機物の放出による地表や地下水の汚染である。それはもともとそうした物質が溶解性であったかも知れないし、あるいは処分後に物理的、化学的あるいは微生物のプロセスを通して可溶性になっていくかもしれない。いづれにしても微生物、特に核種移行に関する嫌気性プロセスの影響についてはほとんど知られていない。

そこで、浅地層環境におけるエネルギー関連廃棄物からの有毒金属の移行と固定に関する微生物プロセスと、放射性廃棄物の微生物による嫌気性変質についてについて検討する。

2. 検討内容

2-1 微生物による有毒金属の移行と固定

この作用は微生物の直接的、間接的な反応によってもたらされ様々なプロセスがあるが、例えば以下のようなものがある。

- ①pHとEhの変化（酸化還元反応）：放射性核種の原子価あるいはイオン状態に影響を与えて土壤に対する結合特性を妨害してそれら核種の移動度を高める。
- ②微生物の代謝生成物あるいは分解物による元素のキレート化、可溶化及び浸出。
- ③微生物の生物的な蓄積(bioaccumulation)と吸着(Biosorption)
- ④生物的なメチル化(biomethylation)
- ⑤ガス生成 ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ など)

放射性核種、有毒金属、有機物の移行、固定に関する嫌気性、好気性条件下でのプロセスを図1.4.3-4 に示す。

(1) 独立栄養菌の活動による金属の可溶化

微生物が無機酸、有機酸、酸化剤を作って鉱石や土の様々な金属を溶かすことが知られており、それらの微生物やメカニズムについては研究がされている。また最近では、銅や

ウランの抽出や、有用金属の回収に微生物のプロセスが利用されている。処分環境におけるこの作用については、材料中に鉄とイオウが酸化物形態か還元物形態かのいづれかで含まれていることが反応の進行に関して重要である。イオウが酸化されて硫酸ができる、これが酸に溶けやすい金属の移行に関与する。例えば、硫黄酸化細菌や鉄酸化細菌による廃棄物中の放射性核種の可溶化や、廃鉱石や石炭ガラからのウランや場合によってはトリチウムの溶出は十分考えられる。

#### (2) 従属栄養菌による金属の移行と固定

廃棄物中有機物があると放射性核種と安定な錯体を形成したり、核種の溶解度や浸出性を増したりする。従属栄養菌の嫌気性あるいは好気性条件下での有機物の利用は、酸化還元反応、有機酸生成、金属イオン封鎖剤(Sequestering Agents)の合成、核種の生物的蓄積、生物的メチル化そして放射性ガス(<sup>14</sup>Cメタンなど)生成といった核種の変質と輸送に影響を与えるだろう。低レベル廃棄物処分場からの浸出液からは脱窒素バクテリア、硫酸塩還元菌、メタン生成菌などが見つかっている。

#### (3) 放射性廃棄物浸出液中の有機物の微生物による嫌気性劣化

低レベル廃棄物処分場からの浸出液中の有機物には直鎖および有枝鎖の脂肪酸、芳香族酸、アルコール、アルデヒド、ケトン、アミン、芳香族の炭化水素、エーテル、フェノールなどがある。これらは、核種の酸化還元状態、錯体形成そして核種の溶解度と浸出率に影響する。嫌気性条件下で土着の微生物の有機物劣化の能力を、浸出液のサンプルを培養して有機物の濃度変化から調べた。それによると、錯体の分解によって有機酸の濃度が増加しており、窒素化合物の形成も有機物の劣化を示している。また低分子量の有機酸は錯体の分解や微生物の代謝によって形成される。

#### (4) 微生物による有機酸とキレート化合物の生成

難溶性金属の微生物による可溶化のメカニズムは、有機酸の生成、キレート化合物の形成、そして金属と結び付く陰イオンの代謝を含めて考察されている。

微生物の作用によって生成する有機酸—ジカルボン酸、多水酸基酸、プロトカテク酸やサリチル酸などのフェノール類などは重金属とキレート化合物を作りやすく、土壤中の金属移行を加速することが知られている。従属栄養菌も金属の移行には関与し、それは排

泄された代謝物と材料の化学反応に起因している。重要なことは微生物による有機酸は低いpHによって金属の溶解度を増すと同時に、錯体によって可溶性の金属の関与も増加させるということである。

キレート化合物は成長のために鉄あるいは他の重要な金属を必要とする微生物によって生成される。そしてキレートの生成が金属の移動度を増加させる。たとえばPu(IV)とFe(III), Th(IV)とPu(IV)は化学的、生物化学的に類似しており、鉄のイオン封鎖剤(Iron Sequestering Agents)がPuや他の重要な金属の錯体生成に重要な役割を果たす。つまりもし廃棄物中にPu他の金属が含まれていれば、微生物によって生成されるキレート剤によって錯体を形成することは明らかである。ただこうした現象に関する今日の研究は好気性微生物について多く行われており、浅地層における核種の移行にとって重要な嫌気性微生物による錯体生成についてはほとんど情報がない。

## 2-2 微生物によるガス生成

微生物は代謝によって直接ガスを放出するか、あるいはトラップされていたガスを間接的に放出させることで放射性ガスの生成について重要な働きをする。とくにメタン生成菌は処分トレンチでの無酸素状態とトリチウムメタンの放出と言う点から十分な注意が払われている。米国West Valley の処分トレンチからは、CH<sub>3</sub>T, HTO, HT, その他のトリチウム炭化水素、<sup>85</sup>Kr, <sup>222</sup>Rn, <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, <sup>14</sup>CH<sub>4</sub> そして他の<sup>14</sup>C炭化水素のしみだしが検出されている。

LLWの処分場の浸出液を無酸素状態で採取し不活性雰囲気下でメタン生成菌を培養して<sup>14</sup>CH<sub>4</sub>やCH<sub>3</sub>Tの生成を観察した実験がある。それによると、ガス生成のプロセスはメタン生成菌が<sup>14</sup>CやTを含む炭化水素を摂取して代謝性生物としてこれらのガスを放出している。また炭素源の存在下でトリチウム水：HTOを摂取してトリチウムメタン：CH<sub>3</sub>Tを生成する例もある。

文献 6)

『The Potential Significance of Microbial Activity in Radioactive Waste Disposal』 A. M. McCabe, Berkeley Nuclear Lab., 1987

1. 目的

地層処分分で大切なことは、放射性核種が浸出して人間の環境にまでそれが浸出してくることである。こうした核種の移行を妨げ、あるいは遅らせるものとしていくつかのバリアがあるが、それが失敗した場合は安全性の確保が脅かされる。このようなバリア機能に影響を与えるファクターに関しては検討する必要があり、微生物の活動はそのひとつである。

廃棄物には放射能レベルによってそれぞれ処分形態が異なるが、いづれの廃棄物についても、微生物による有害な影響を防いだり、あるいはそれを最小限にするための処分形態や処分場の設計を明確にすることが重要である。ここでは、考えられる微生物の影響と活動についてレビューを行う。

2. 実施内容

2-1 生存に必要なもの

微生物が活動し成長するには生命にとって基本的に必要とされるものがある。それらは、

- ①水
- ②炭素源
- ③その他の栄養源（例、イオウ、燐、窒素、微量元素類、塩素イオンなど）
- ④エネルギー源：電子供与体～ $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{H}_2$ 、 $\text{CH}_4$   
電子受容体～ $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{O}_2$

2-2 処分場の条件

微生物の活動には特に水と炭素が重要であるが、処分場の様々な環境条件が微生物の活動に影響する。それらは、

- ①pH：強力な制約因子である。
- ②Eh：かなり広範囲の生存域が存在する。
- ③温度：ほとんどの微生物が32-40 °Cで成長するが0 °C以下や80°Cでも成長

するものがある。

④圧力：20MPa 位になるとほとんどの微生物は死んでしまうが、180MPaまで生存するものもある。

⑤放射線： $5 \times 10^3$  Gyの照射に耐えるものや10Sv/hr の線量下で生き残った例 (Three Mile Islandの炉心) がある。

また酸素の有無が微生物存在の大きな要因となる。処分場の開放時や閉鎖時、閉鎖後時間経た場合で存在する酸素量が変化し、それによって微生物の種類が変わる。

### 2-3 ニアフィールドへの微生物の影響

処分場の安全性評価の観点から微生物の影響を見ると、次のような項目が挙げられる。

①材料への直接作用：無機物、有機物の劣化。

②バリアの物理的破壊：き裂やボイドの形成。

③ガス生成（放射性核種の放出）：上記2つの作用によるガス生成。放射性核種を含むメタン、水素、二酸化炭素などを生成する。

④放射性核種の取り込み：微生物の中への取り込みと外層膜(Outer Membranes)への吸着。

⑤地下水の化学的性質の変化：微生物の代謝によってEh, pH, 有機物濃度を変化させる。

### 2-4 微生物の影響の評価

外側から来る微生物は埋め戻し材とキャニスターを劣化するが、pHと栄養素といったいくつかの因子がそれに逆らうように作用する。また廃棄物自身の中に含まれている微生物の活動にとって重要な因子は、水分、炭素およびその他の栄養素、pHそして酸素の入手性である。

## 3. 考察

次のことがいえる。

①基本的な生存条件が満足されなければどの様な環境においても微生物は生存できない。

- ②水の活動度(Water Activity)は少なくとも0.6-0.7は必要。
- ③水が十分ない時は微生物は胞子を作つて生き残ろうとする。
- ④コンクリートのためにpHが例えば10.8以上になると微生物の成長を妨げる。
- ⑤廃棄物の中に酸性のミクロ的な環境が形成されて微生物の活動が生じる。
- ⑥仮に有機系炭素が高pHの処分場から取り除かれれば、微生物の活動はほとんどすべてなくなるであろう。

文献 7)

『A Survey of Possible Microbiological Effects within Shallow Land Disposal

Sites Designed to Accept Intermediate-Level Radioactive Waste』

P. E. Rushbrook, AERE Harwell, 1985

### 1. 目的

コンクリート製トレンチへの比較的低い  $\alpha$  放射能を持つ中レベル廃棄物の浅地層処分場では、廃棄物を安全に隔離するために処分場およびその処分容器、トレンチの埋め戻し材とライニング材などの人工バリア、そして天然バリアがあるが、処分場に入れられるすべての材料はそれらの効果を減じようとする物理的、化学的、生物的プロセスの下に置かれる。そこで中レベル廃棄物の浅地層処分に関連する微生物の効果について文献調査を行う。

### 2. 実施内容

#### 2-1 検討対象

処分トレンチ、処分容器材料、埋め戻し材そして処分体自身について、処分場の建設、処分体の設置、処分場の閉鎖の各ステージにおける微生物の活動を考える。

#### 2-2 処分トレンチの環境

公開文献について議論する前に微生物の活動を制限する環境因子を理解し、処分トレンチを支配する環境条件を確認することが重要である。微生物の活動に影響する環境因子には次のようなものがある。

- ①基質（成長に必要なエネルギー源と炭素源を供給する）
- ②水
- ③温度
- ④酸素及びEh条件
- ⑤pH

しかしトレンチの建設や処分体の設置段階では大気に対して開放状態となるのでいくつかの因子は制限がなくなる。またトレンチ閉鎖においては、閉鎖直後の環境は好気性であるが、その後は嫌気性に変化するので嫌気性細菌によって置き換えられる。一方微生物への放射線の影響は、微生物の種類、細胞の年齢、成長の履歴、媒体、線量率、温度などに

よって変化する。

## 2-3 低レベル処分体への微生物の影響

ビチューメン、鉄、樹脂の微生物による劣化について調査した。

- ①ビチューメン：製造工程での加熱温度(80 ~190 °C)によって微生物は死滅する可能性があるが、冷却後の再汚染が考えられる。従って殺菌剤(Biocide)を加えるべきである。ビチューメンは炭化水素化合物の混合体で、水溶性のものもあり、微生物の活動を助ける。ただ代謝の経路が処分場で整うかどうかは今のところ明確ではない。
- ②鉄 : 硫酸塩還元菌による嫌気性腐食が研究されている。これによる腐食は局部的なものになる。
- ③樹脂 : 処分に関係するのは、エポキシ樹脂とポリウレタンである。これらの樹脂の微生物に対する抵抗性はビチューメン、コンクリート以上に分かっていない。ただし好気性の条件下で生息状況を調べた例はある。それによると成長を助けることはないようであるが、硬化したエポキシ樹脂では2種類の微生物の成長が確認されている。

## 2-4 埋め戻し材への微生物の影響

7種類の埋め戻し材について、栄養素、模擬地下水、鉱物溶解液を用いてその中の微生物の活動を調べた例がある。それによると、広範囲にわたる微生物が埋め戻し材の中で見付かっている。ただし、埋め戻し材の中での長期にわたる微生物活動の予測の困難さも指摘されている。

## 2-5 コンクリートへの微生物の影響

好気性の劣化が多く報告され、嫌気性の作用に関する情報はほとんどない。コンクリートの微生物による劣化には次のようなプロセスがある。

- ①機械的プロセス：凍結と融解のサイクルにおいて水との結び付きが強い微生物がコンクリートの表面にいるとこのサイクルの作用を間接的に増大させる。

②化学的プロセス：栄養素あるいはエネルギーとして特定物質を代謝するとか、あるいは構造材料を化学的に分解する腐食性の物質や錯体を分泌することによって材料を劣化する。硫黄酸化細菌によるコンクリートの腐食がよく知られている。

③表面汚損(Surface Soiling)：物質表面の微生物によってないにも拘らず、表面を汚したり装置の運転を邪魔したりする。

### 3. 考察

文献調査からは微生物の活動の定量的な効果を確かめることは不可能で、また微生物によって強められた核種の移行の存在を示すものはなかった。しかしそのような条件で微生物の活動が保持されるか、処分場の寿命期間中に活動が活発になるかどうか、またその場合にかなりの劣化を処分体にもたらすかどうか、といったことを今後研究すべきである。

- ①処分候補地の土壤と地下水中の微生物グループの同定。
- ②同定された微生物の環境因子に対する耐性の確立。
- ③様々なトレーンチ環境で微生物の活動制限する因子の決定。
- ④微生物の作用に対するビチューメンコーティングの抵抗の評価。
- ⑤微生物種と埋め戻し材組成の確認（②③に関連）。
- ⑥埋め戻し材中に導入される殺生物剤の時間的な効果と安定性の調査。
- ⑦高pHのトレーンチ水に対する埋め戻し材の自然の緩衝作用の調査。
- ⑧処分トレーンチ環境における軟鋼、ステンレス鋼、その他の鉄鋼材料のS R Bによる劣化に対する抵抗性の決定。
- ⑨セメントあるいはビチューメン中にアルカリ抵抗性の微生物がいるのであれば、そこに含まれる有機物を代謝する能力についての確認。

## 1.2 考えるべき環境

核種移行とからめて微生物を議論する場合、考える環境として処分孔(Vault)、岩体(Rock Mass)、生物圏(Biosphere)の3つが挙げられている。それぞれの環境で化学的、物理的性質が微生物の生存と代謝を導くときのみ最終的に微生物による核種移行が生じるとして、それぞれの環境について説明している<sup>4)</sup>。

まず処分孔ではその構造(材料構成)に特徴がある。ひとつは粘土主体の緩衝材であり、もうひとつは破碎した岩石を使うこともある埋め戻し材である。緩衝材の方は膨潤性(圧縮性)によりその中の水の流れは拡散によるものとなるが、埋め戻し材はその材料形態からといって水の流れは拡散だけとは限らず、緩衝材に比べると対流の効果が出てくる。また環境に関わる物理的な性質としては温度と圧力がある。燃料あるいは燃料サイクル関連廃棄物の処分場としては埋め戻し材の最高温度として100℃、圧力の方は建設から処分場閉鎖の間で大体大気圧から10-12MPa程度といわれている。一方化学的な性質として重要なものは地下水の塩分濃度である。また地下水と緩衝材、埋め戻し材との相互作用による酸化還元雰囲気の変化も処分場の環境に影響する。

岩体の物理化学的性質は、その内側の処分孔とはかなり変わる。例えば温度はかなり下がり、新鮮な地下水が塩水に混じるために塩分濃度も低くなる。従って文献4)によれば、酸化還元条件も処分孔に比べてかなり変わり、還元性雰囲気からゆるやかな酸化性雰囲気になるといわれている。ただしより厳密な岩体の影響評価をするには特定のサイトを指定する必要がある。

生物圏は大きく3つ—岩盤上にある飽和した未固結飽和堆積層、浅地層と表面水が関係する放出域(Discharge Areas)、飽和堆積層の上にある不飽和堆積層—に分けられる。ここで重要なのは深いところにある還元性の地下水が酸化性の地表環境に接する所で酸化還元バリアを形成することである。このバリア域では元素類が蓄積しやすいといわれている。放射性廃棄物に関しては特定のデータはないが、ウランを含む泥炭の存在は酸化還元バリアでの元素類の蓄積の可能性を示している。人間界への影響は、不飽和層と密接に関係する。不飽和層は吸水-脱水のサイクルを持っており、水位の変化の影響を受ける。重要なことは植物の根を通して汚染物質の輸送の可能性があるかどうかということである<sup>4)</sup>。

この様な全般的な環境のとらえ方に関連して処分場という特殊性、つまり極限的な環境を考えてみる。従来、たとえ深い地中に微生物がいたとしても、処分場の特にニアフィー

ルドは放射線や発熱源の存在、水分の不足あるいは生物的に毒性のある物質 (Pb, Cu など) の存在などのために、微生物の活動には適さない環境と考えられてきた。しかし近年の研究はそうした考え方が正しくないことを示すと共に、特定の微生物について極限条件下での生存条件を示すに至っている（表 1.2-1）。その例として、250 °C以上、265atmという条件で生息する微生物の存在が確認されている。これは、海底での高温の硫黄の吹き出し中で微生物がみつかったものであるが、この様な極限条件下で微生物の存在が確かめられたことは、従来微生物の生息限界は110 °Cあるいは120 °Cといわれてきただけに、多くの生物学者を驚かせた<sup>1)</sup>。

この様に地下の環境を見て來ると、処分場は一般の微生物の存在にとって厳しいがその存在、増殖の可能性は否定できない。

以下に地下環境、処分環境における微生物の存在について整理していく。

表 1.2-1 極限環境に対する微生物の耐性<sup>1)</sup>

Table 1. Tolerance of microbes to extreme environments (updated from West et al.(5))

Condition	Examples of Organism	Limit of Growth
High temperature	'Black smoker' bacteria	> ~ 250°C (at 265 atm)
Low temperature	<u>Sporotrichum carnis</u>	< -20°C
High pH	<u>Nitrobacter sp</u> <u>Nitrosomonas sp</u>	> 13
Low pH	<u>Thiobacillus ferrooxidans</u>	~ 0
High salinity	<u>Halobacterium halobium</u>	> ~ 50% salt by wgt.
Low salinity	<u>Salmonella oranienburg</u>	< ~ 70 ppb dissolved salt
High pressure	<u>Vibrio desulfuricans</u> . ( <u>Desulfovibrio desulfuricans</u> )	> ~ 180 MPa
Radiation	<u>Micrococcus radiodurans</u>	Single dose 5 x 10 <sup>5</sup> rad

### 1.3 微生物の存在

#### 1.3.1 微生物の存在の可能性

処分場となりえる最大1000mの深さの地下環境に微生物が存在することができるかどうかは、「そういう地下環境条件」と「微生物が生存できる環境条件の範囲」とを比較することにより推定することができる。まずここでは、天然の地層での存在の可能性について検討を加えた。

##### (1) 地下環境条件

スエーデンにおける地下200-800mの地下水の化学組成調査例を表 1.3.1-1、表 1.3.1-3および表 1.3.1-4に、地下60mにおける地下水の化学組成調査例を表 1.3.1-2 に示す。更に、表に書かれていらない条件として圧力は100気圧(10-12 MPa)、電気伝導度>40000S、溶解性物質>200g/lに達するという推定がある<sup>4)</sup>。これらの表から、微生物にとって一応厳しいと考えられる環境条件は、

- ・酸素(O<sub>2</sub>、Oxygen)がほとんど無いこと<sup>3)</sup>
- ・酸化還元電位(Redox mV)が低いこと<sup>3)</sup>
- ・塩分濃度が高いこと。特に深さとともに増加すること<sup>3)</sup>
- ・有機物含量がTOCで数mg/lであり、低いこと<sup>3)</sup>
- ・圧力が高いこと

である。

##### (2) 微生物が生存・増殖できる環境条件の範囲

微生物は、その増殖のため的一般的な最適条件(例えば、温度30-37°C、pH7)から大幅に外れた、一般の微生物なら死滅するような極限環境でも、種類によっては生存・増殖できることが知られている。そういう特殊な微生物は、温泉とか深海とかいう地球上の極限環境で見出だされることが多い。

微生物が増殖できる環境の限界をまとめた表が作られている。1966年には、表 1.3.1-5 の状況であったが、その後新しい微生物が発見されるなどして表 1.3.1-6、表 1.3.1-7の状況に変わった。この表以外にも、著名な海洋生物学者のZobellにより水深5800mの海底から単離された*Bacillus* 属の好圧性生物(500気圧以上の圧力下でよく発育する

が1気圧では発育できない生物=barophile<sup>15)</sup>や、-30℃で生存する酵母や-40℃で生存する地衣類も報告されている<sup>7)</sup>。

### (3) 地下環境での微生物の生存・増殖の可能性

こういう微生物が上記の地下環境で増殖可能かどうかという問題であるが、塩分濃度については、溶解性物質 $> 200 \text{ g/l}$ という最も厳しい地下環境より更に厳しい50%の塩分濃度においても好塩性生物(halophile)が増殖可能と報告されている。また、圧力については、大部分の微生物は処分場で想定される最大100気圧(10-12 MPa)よりやや高い20 MPaで死滅するとされているが<sup>6)</sup>、それを大幅に越える500気圧で増殖する好圧性生物や、更にそれ以上の180 MPa(1800気圧)で増殖する生物が報告されている(表 1.3.1-6)。

酸素の無いことおよび酸化還元電位の低いことについては、嫌気性生物にとっては問題無い。有機物濃度が低いことは、化学合成従属栄養生物の増殖速度を制限し、化学合成独立栄養生物にとって有利な条件を作り出す。しかし、後者の生物は増殖速度がもともと低い。即ち、有機物濃度が低いことは微生物の増殖を低下させるが、全く停止させる要因とはならない。

地下水組成について、他の栄養塩の不足の問題や、有害物質の存在は、特に文献では言及されていない。

表 1.3.1-1 Åvrö テスト地のボーリング孔EV01での地下水の化学組成<sup>2)</sup>

Table 3-1 The chemical composition of the ground water at the Åvrö test site, borehole EV01

Level	m	635	558	522	420
Date		870420/22	870602/03	870825	870922/23
pH		6.5	7.2	7.0	6.9
Cond. mS/m		2660	1310	680	232
Oxygen mg/l		0.05	0.09	-	0.2
TOC mg/l		<0.5	3.9	-	9.6
Si mg/l		4.0	5.1	5.8	4.9
Na mg/l		3200	1500	750	255
K mg/l		8	6	7.4	5.0
Li mg/l		1.2	0.55	0.21	0.0051
Ca mg/l		2800	1100	440	162
Mg mg/l		31	60	42	29
Sr mg/l		-	20	6.0	5.9
Al mg/l		0.027	0.39	0.11	0.16
Mn mg/l		0.18	1.7	2.4	3.1
Fe tot µg/l		0.438	1.02	2.23	1.68
Fe <sup>2+</sup> mg/l		0.430	1.02	2.23	1.68
HCO <sub>3</sub> mg/l		9.9	42.3	81	1.87
Cl mg/l		9700	4300	1970	616
F mg/l		1.4	1.8	2.2	2.6
Br mg/l		72	24	8.9	3.0
I mg/l		0.72	0.32	0.10	0.06
S <sup>-2</sup> mg/l		<0.01	0.81	1.20	0.59
PO <sub>4</sub> mg/l		<0.003	0.010	<0.005	0.001
SO <sub>4</sub> mg/l		400	220	118	47
NO <sub>2</sub> mg/l		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
NO <sub>3</sub> mg/l		<0.01	<0.01	<0.02	<0.01
NH <sub>4</sub> mg/l		-	0.080	0.06	0.08

表 1.3.1-2 Hindås n i における 60 m の深さの対照用井戸水の化学組成<sup>2)</sup>

Table 3-2 The chemical composition of the 60 m deep reference well water at Hindås. The pH was 6.5

Oxygen	mg/l	<0.1	Mn	mg/l	0.18
TOC	mg/l	1.4	Fe <sub>tot</sub>	mg/l	4.2
Si	mg/l	7.0	Fe <sup>2+</sup>	mg/l	-
Na	mg/l	7.2	HCO <sub>3</sub>	mg/l	62.7
K	mg/l	3.5	Cl	mg/l	12
Ca	mg/l	16.8	PO <sub>4</sub>	mg/l	0.067
Mg	mg/l	2.8	NO <sub>2</sub>	mg/l	0.0024
Al	mg/l	0.24	NO <sub>3</sub>	mg/l	0.019
			NH <sub>4</sub>	mg/l	0.140

表 1.3.1-3 Stripa鉱山テスト地のボーリング孔 V1、V2 での地下水の化学組成表<sup>2)</sup>

Table 3-3 The chemical composition of the ground water at the Stripa mine test site, borehole V1 and V2.

Borehole	V1	V2:1	V2:4	V2:5
Level	505-505.9	559-822	402-410	389-397
Date	870212/0423	870212/0423	870212/0423	870212/0423
pH	9.42	10.24	9.37	9.55
Cond. $\mu$ S	1460	1180	1664	425
Oxygen mg/l	-	-	-	-
TOC mg/l	-	-	-	-
Si mg/l	-	-	-	-
Na mg/l	230	210	210	87
K mg/l	1.2	0.47	0.60	0.19
Li mg/l	0.064	0.043	0.045	0.018
Ca mg/l	200	110	230	31
Mg mg/l	0.25	0.047	0.30	0.10
Sr mg/l	1.6	1.0	1.9	0.27
Al mg/l	0.007	0.036	0.027	0.031
Mn mg/l	-	-	-	-
Fe <sub>tot</sub> mg/l	0.006	0.017	0.008	0.004
Fe <sup>2+</sup> mg/l	<0.005	0.015	<0.005	<0.005
HCO <sub>3</sub> mg/l	-	-	-	-
Cl mg/l	580	510	700	180
F mg/l	5.3	5.4	3.0	4.8
Br mg/l	-	-	-	-
I mg/l	0.15	0.29	0.19	0.030
S <sup>-2</sup> mg/l	<0.01	3.4	0.15	<0.01
PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> mg/l	-	-	-	-
SO <sub>4</sub> mg/l	82.4	35.6	80.9	4.83
NO <sub>2</sub> mg/l	0.002	<0.001	<0.001	<0.003
NO <sub>3</sub> mg/l	<0.010	<0.010	<0.010	<0.010
NH <sub>4</sub> mg/l	<0.010	<0.010	0.010	<0.010

表 1.3.1-4 KAV01、KAS02、KAS03、KAS04、KLX01の地下水  
の化学組成<sup>10)</sup>

Table 3-5 The composition of the groundwater of KAV01, KAS02,  
KAS03 KAS04 and KLX01. -f=field lab, -b=bore hole  
sonde, --=not determined.

Borehole	KAV01	KAV01	KAV01	KAV01	KLX01	KLX01
Level m	420	522	558	635	272	466
Date	870923	870825	870603	870421	881209	881123
Analyse number	1391	1383	1374	1354	1538	1528
Temp °C	12.9	14.86	15.0	-	-	-
pH	6.9	7.0	7.2	6.5	7.93	8.2
E <sub>h</sub> -f mV	-213	-290	-230	-112	-240	-
E <sub>h</sub> -b mV	-215	-	-204	-	-	-
Cond. mS/m	232	680	1310	2660	760	637
N <sub>2</sub> µl/l	-	-	-	-	25000	-
H <sub>2</sub> µl/l	-	-	-	-	88	-
He µl/l	-	-	-	-	-	-
CH <sub>4</sub> µl/l	-	-	-	-	110	-
CO µl/l	-	-	-	-	14	-
CO <sub>2</sub> µl/l	-	-	-	-	-	-
O <sub>2</sub> -f mg/l	0.18	0.16	0.10	-	0.35	-
TOC mg/l	-	-	3.9	<0.5	1.5	1.4
SiO <sub>2</sub> mg/l	4.9	5.8	5.1	4.0	11.4	11.6
Na <sup>+</sup> mg/l	255	750	1500	3200	1011	854
K <sup>+</sup> mg/l	5.0	7.4	6	8	5.68	6.0
Li <sup>+</sup> mg/l	0.0051	0.21	0.55	1.2	-	0.15
Ca <sup>++</sup> mg/l	162	440	1100	2800	244	225
Mg <sup>++</sup> mg/l	29	42	60	31	26.2	17
Sr <sup>++</sup> mg/l	5.9	6.0	20	-	-	4.0
Al <sup>+++</sup> mg/l	0.16	0.11	0.39	0.027	-	0.092
Mn <sup>++</sup> mg/l	3.1	2.4	1.7	0.18	0.197	0.138
Fe <sup>2+</sup> mg/l	1.68	2.23	1.02	0.430	0.198	0.390
Fe <sub>tot</sub> mg/l	1.68	2.23	1.02	0.438	0.200	0.410
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	1.87	81	42.3	9.9	80.6	77.0
Cl <sup>-</sup> mg/l	616	1970	4300	9700	2070	1698
F <sup>-</sup> mg/l	2.6	2.2	1.8	1.4	2.32	2.46
Br <sup>-</sup> mg/l	3.0	8.9	24	72	6.03	6.44
I <sup>-</sup> mg/l	0.06	0.10	0.32	0.72	0.13	0.12
S <sup>2-</sup> mg/l	0.59	1.20	0.81	<0.01	0.473	0.460
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> mg/l	47	118	220	400	48.5	105
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> µg/l	5	5	10	3	<1	4
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> µg/l	<1	<1	<1	<1	<1	<1
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> µg/l	<10	20	<10	<10	<10	<10
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> µg/l	80	60	80	-	81	61
Drilling water %	9.6	10.0	-	-	4.60	13.7
Water flow ml/min.	178	165	200	120	130	138

Table 3-5 continuing

Borehole Level m	KLX01	KLX01	KAS02	KAS02	KAS02	KAS02
680	680	202	314	463	860	
Date	881102	891101	890111	880412	880425	890131
Analyse number	1516	1633	1548	1419	1428	1560
Temp °C	-	16.1	-	12.41	15.47	16.32
pH	8.05	7.9	7.43	8.52	8.34	8.35
E <sub>h</sub> -f mV	-280	-246	-258	-293	-218	-140
E <sub>h</sub> -b mV	-	-	-	-	-	-
Cond. mS/m	1714	1540	1541	1560	1630	3130
N <sub>2</sub> µl/l	72000	33800	38600	-	-	48000
H <sub>2</sub> µl/l	-	-	610	3700	-	-
He µl/l	-	-	-	3000	-	-
CH <sub>4</sub> µl/l	220	44	30	60	-	34
CO µl/l	1.5	-	0.6	20	-	42
CO <sub>2</sub> µl/l	290	350	-	1400	-	490
O <sub>2</sub> -T mg/l	-	-	-	0.01	0.04	0.38
TOC mg/l	1.2	3.3	6.0	2.4	3.0	<0.5
SiO <sub>2</sub> mg/l	13	5.78	13	5.23	3.6	8.38
Na <sup>+</sup> mg/l	1120	1619	1206	1560	1800	2845
K <sup>+</sup> mg/l	6.4	5.84	6.7	7.1	8.1	11.0
Li <sup>+</sup> mg/l	0.53	-	0.38	-	0.81	1.90
Ca <sup>++</sup> mg/l	1400	-	998	1541	1580	3831
Mg <sup>++</sup> mg/l	9.1	-	60.8	75	66	31.5
Sr <sup>++</sup> mg/l	24	-	18	-	30	63
Al <sup>+++</sup> mg/l	0.085	-	-	-	0.046	0.062
Mn <sup>++</sup> mg/l	0.191	0.620	1.0	0.81	0.73	0.28
Fe <sup>2+</sup> mg/l	0.029	0.139	0.483	0.792	-	0.485
Fe <sub>1st</sub> mg/l	0.031	0.139	0.500	0.793	0.964	0.500
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	23.9	-	71	26.6	25	11.0
Cl <sup>-</sup> mg/l	4861	-	3822	5343	5440	11097
F <sup>-</sup> mg/l	1.63	1.73	1.36	1.33	1.4	1.62
Br <sup>-</sup> mg/l	38	28.5	13.4	22.6	28	74.1
I <sup>-</sup> mg/l	0.27	-	0.30	0.33	0.32	0.69
S <sup>++</sup> mg/l	2.55	0.665	0.48	0.143	0.13	0.715
SO <sub>4</sub> <sup>++</sup> mg/l	351	392.5	106	271	290	518
PO <sub>4</sub> <sup>++</sup> µg/l	2	3	3	2	4	11
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> µg/l	<1	<1	2	<1	<1	<1
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> µg/l	<10	-	<10	<10	<10	<10
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> µg/l	4	40	39	330	220	11
Drilling water	‰	2.62	1.992	0.808	0.616	0.38
Water flow	ml/min.	138	96	61	180	160
						135

Table 3-5 continuing

Borehole Level m	KAS03	KAS03	KAS04	KAS04	KAS04	
Date	129	860	195	290	380	
Analyse number	890222	890315	890417	890427	8790403	
Temp °C	10.2	20.5	10.83	-	-	
pH	8.04	8.12	8.19	8.00	8.07	
E <sub>h</sub> -f mV	-280	-270	-290	-	-285	
E <sub>h</sub> -b mV	-260	-250	-	-	-	
Cond. mS/m	471	3532	264	1082	1926	
N <sub>2</sub> µl/l	20000	40000	34000	50000	7000	
H <sub>2</sub> µl/l	-	-	-	-	-	
H <sub>2</sub> e µl/l	-	-	720	2700	1800	
CH <sub>4</sub> µl/l	16	37	85	28	3.6	
CO µl/l	11	35	0.7	-	1.3	
CO <sub>2</sub> µl/l	1200	175	4500	960	330	
O <sub>2</sub> -f mg/l	-	0.26	0.33	-	0.29	
TOC mg/l	2.0	0.5	6.9	5.3	1.3	
SiO <sub>2</sub> mg/l	11.5	9.02	10.9	8.9	11.2	
Na <sup>+</sup> mg/l	609	2998	384	1180	1883	
K <sup>+</sup> mg/l	2.20	5.49	2.18	5.51	5.04	
Li <sup>+</sup> mg/l	0.13	1.65	-	0.38	0.94	
Ca <sup>+2</sup> mg/l	163	4376	91.5	769	1657	
Mg <sup>+2</sup> mg/l	20.4	43.7	5.7	30.4	58.3	
Sr <sup>+2</sup> mg/l	3.3	78	1.8	12.6	28.9	
Al <sup>-3</sup> mg/l	0.039	-	-	-	-	
Mn <sup>+2</sup> mg/l	0.105	0.25	0.075	0.29	0.45	
Fe <sup>2+</sup> mg/l	0.123	0.076	0.040	0.324	0.255	
Fe <sub>tot</sub> mg/l	0.124	0.077	0.041	0.325	0.260	
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/l	61.2	10.6	222.7	68.8	20.5	
Cl <sup>-</sup> mg/l	1234	12297	500	3058	5845	
F <sup>-</sup> mg/l	2.12	1.58	4.12	2.65	1.70	
Br <sup>-</sup> mg/l	4.81	84.7	2.50	15.9	24.4	
I <sup>-</sup> mg/l	0.10	-	0.07	0.16	0.44	
S <sup>-2</sup> mg/l	0.586	1.28	1.09	0.42	0.61	
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup> mg/l	31.1	709	179	221	407	
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> µg/l	5	<3	7	4	<3	
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> µg/l	<1	<1	<1	<1	<1	
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> µg/l	<10	<10	<10	<10	<10	
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> µg/l	36	-	15	88	50	
Drilling water	%	0.064	0.13	0.16	0.51	0.08
Water flow	ml/min.	122	118	100	108	93

表 1.3.1-5 微生物の増殖にとっての環境条件の限界<sup>14)</sup>

TABLE 3-3. ENVIRONMENTAL LIMITS FOR GROWTH AND REPRODUCTION OF MICROORGANISMS

<i>Factor</i>	<i>Lower limit</i>	<i>Upper limit</i>
Temperature	-12°C (fungi, bacteria)	104°C (sulfate-reducing bacteria at 1000 atm)
$E_h$ (at the prevailing pH)	-350 to -450 mv at pH 8 to 9.5 (sulfate-reducing bacteria)	+850 mv at pH 3 (iron bacteria)
pH	0 ( <i>Acontium velatum</i> , <i>Thiobacillus thiooxidans</i> )	13 (?) ( <i>Plectonema nostocorum</i> )
Hydrostatic pressure	Essentially 0	1400 atm (deep sea bacteria)
Salinity	Double distilled water (heterotrophic bacteria)	Saturated brines ( <i>Dunaliella</i> , halophilic bacteria)

Adapted from Vallentyne (1963) and Vallentyne (personal communication).

表 1.3.1-6 極限環境への微生物耐性<sup>6)</sup>

TABLE 3

Tolerance of Microbes to Extreme Environments

<u>Environmental Conditions</u>	<u>Examples of Resistant Organisms</u>	<u>Limit of Growth</u>	<u>References</u>
High temperature (Thermophiles)	Bacillus Stearothermophilus "Black Smoker" bacteria	> 80°C ~ > 250°C (at 265 atm) 25.5 MPa	Baker et al, 1985 Kuznetsov et al, 1963
	Sulphate reducing bacteria	> 104°C ~ (at 10 <sup>3</sup> atm)	Zobell, 1958
Low temperature (Psychrophiles)	Sporotrichium carnis	< - 20°C	Zajic, 1969
High pH (Basophiles)	Nitrobacter sp Nitrosomas sp	> 13	Zajic, 1969
Low pH (Acidophiles)	Thiobacillus ferrooxidans	~ 0	Lundgren et al, 1972 Horikoshi et al, 1982
High salinity (Halophiles)	Halobacterium halobium	> 50% salt ~ by weight	Zajic, 1969
Low salinity (Nonhalophiles)	Salmonella	> 70 ppb ~ dissolved salt	Zajic, 1969
High pressure (Barophiles)	Vibrio desulphuricans (Desulfovibrio desulfuricans)	> 180 MPa ~	Kuznetsov et al, 1963
High radiation	Micrococcus Radiodurans Saccharomyces cerevisiae	Single dose > 5 x 10 <sup>5</sup> rad Single dose > 10 <sup>6</sup> rad	Nasim and James, 1977 Zajic, 1969

表 1.3.1-7 極限環境への微生物耐性<sup>9)</sup>Table 3.3

Tolerance of microbes to extreme environments  
(updated from West et al., 1982a)

Condition	Examples of organism	Limit of growth
High temperature	'Black smoker' bacteria	250°C (at 26.5 MPa)
Low temperature	<u>Sporotrichum carnis</u>	- 20°C
High pH	<u>Nitrobacter spp</u> <u>Nitrosomonas spp</u>	13
Low pH	<u>Thiobacillus ferrooxidans</u>	0
High salinity	<u>Halobacterium halobium</u>	50% salt by wt
Low salinity	<u>Salmonella oranienburg</u>	70 ppb dissolved salts
High pressure	<u>Vibrio desulfuricans</u> ( <u>Desulfovibrio desulfuricans</u> )	180 MPa
Radiation	<u>Micrococcus radiodurans</u>	Single dose $5 \times 10^5$ rad
Chemical Toxins e.g. *PbCl <sub>2</sub>	<u>Aspergillus niger</u>	$67 \text{ mg ml}^{-1}$
* CuSO <sub>4</sub>	<u>Pseudomonas C-1</u>	$10^3 \text{ M} - 10^4 \text{ M}$

\* Ehrlich (1978)

### 1.3.2 微生物の存在の確認

地下環境での微生物の存在を確認するには、まず地下環境から試料を採取したのち、その試料に対し下記の方法を適用して、微生物の存在を調べる。

#### ①微生物計数

これは、試料中の微生物の数を数えるという方法で最も直接的であるが、その場で生きて活動している微生物、生きてはいるが活動はしていない微生物、および死んだ微生物の三者を区別するのが大変むずかしい<sup>1,2)</sup>。従って、結果の評価もむずかしい。

#### ②化学物質添加実験

これは、地下環境そのままでは小さすぎて測定できない微生物の増殖やエネルギー源の消費、代謝産物生成の速度を、地下環境での微生物増殖を制限していると考えられる各種物質を試料に加えて一定時間培養することにより、調べる方法で、どういうグループの微生物が多く存在するかが推定できる<sup>2)</sup>。しかし、微生物数との関係は明確でない。

#### ③トレーサーによる活性測定

放射性同位元素を含む物質を微生物に取り込ませ、その速度を測る方法である<sup>1,2)</sup>。化学物質添加実験では、かなり多量の物質を試料に加えることになるので、地下環境とはいくらか異なる状態で微生物活性（物質代謝する速度）を測ることになるのに対し、より現場に近い状態での活性がわかる。

以上の三つの方法に試料のサンプリング方法を加えた四つの項目について、以下詳述する。

#### (1) サンプリング方法

地下環境での微生物の存在を確認するという目的での地下水のサンプリングには、大きな困難が伴う。それは、

- a. サンプリングのためボーリング孔をあける必要があるが、掘削用の流体などから  
の外来の微生物の汚染を排除できるか<sup>2)</sup>

b. 試料の状態を変えずに、例えば酸素に触れることなく実験室まで持ち込めるかなどの理由による。しかし、その問題に対処する次のような各種装置が試みられている<sup>2) 3) 10)</sup>。

#### ①一体型可搬野外実験室 (field laboratory)

地下水の採取と迅速な測定のための装置で、Wikberg(1987) が詳細を記述している<sup>10)</sup>。サンプリングはポンプで汲み上げていると読み取れる。

#### ②ガスサンプラー

微生物調査のためガス分析用の試料採取器で、実際の試料採取の深さでの開閉を表面から操作できる。試料は、空気に触れることなく実際の試料採取の深さの圧力のまま表面まで運ぶことができる<sup>3)</sup>。

#### ③ボーリング孔

直径 7.5 mm で掘削されたコア (core=円筒形の穴)<sup>10)</sup> からポンプで地下水を汲み出す<sup>2)</sup>。コアは掘削の間、100-150 m の深さの衝撃掘削孔からの地下水を流される。掘削水はトレーサーとしてのウラニン (uranine) で標識される (ただし所定流量 100-150 ml/分に達するまでは閉じ込めておく)。実際に測定した結果では、サンプリングする地下水への掘削水混入率 2.62-13.7%、0.06-0.51% という値が得られている<sup>10)</sup>。(掘削後、地下水を流し、地下水中のウラニン濃度を測定することによって掘削水混入率を求めていると思われる。)

以上のサンプリング方法間の全菌数、生菌数 (後述) の比較がされている<sup>10)</sup>。全菌数については①と②の間で相関が認められるが、生菌数については②で増加しても①では値が変わらない。即ち、ポンプ汲み上げが試料中の微生物の生存に影響を与えていたりかもしれない。

## (2) 微生物計数

方法

地下環境の微生物の代表的なものは細菌である。微生物計数は主として細菌を対象に行われている。しかし、自然環境における細菌の数を正しく知るのは極めて難しい。何故なら細菌は、動物などと違って見ただけでは生きているかどうか判別できないからである。

生きていることを確認するために、試料を、寒天などで固めた栄養豊富な固体培地に接種して、一つの細菌からの増殖菌体がその細菌の周りに肉眼で見える塊（コロニー）を作るようにして、コロニーの数から細菌数を求める方法がある。この方法で求めた細菌数を生菌数という。しかし現在、生菌数測定に用いる培地の中に、すべての生きている細菌にコロニーを作らせることのできる培地は無い。細菌の種類によって各々異なる栄養を要求するからである。しかも、生きていることは液体培養で確認できるが、どんな固体培地を使ってもコロニーを作らせられない細菌もいる。従って生菌数は、生きている細菌の数の最低限を示すと考えるべきである。なお生菌数としては、使う培地の種類により、○○菌数と表わすことがある。

一方、生きているかどうかは別にして、細菌の形をしているものを顕微鏡で数える方法がある。この方法で求めた細菌数を全菌数という。全菌数は当然死菌も含む値となる。以下に述べるアクリジンオレンジによる染色法である程度死菌を判別できると言われるが、必ずしも確実ではない。従って全菌数は、生きている細菌の数の最大限を示すと考えられる。

以下、文献に記載されている全菌数、生菌数の測定方法を紹介する。

## &lt;全菌数&gt;

①アクリジンオレンジによる染色と蛍光顕微鏡下での計数<sup>2)</sup>

試料採取直後に、試料水の一部をメクリポアフィルター（ $0.2 \mu\text{m}$ 、直径 = 13 mm）で濾過した。濾液量は試料中の細菌数による。顕微鏡の視野あたり大体 50 細菌数を目指した。試料は、10 mg のアクリジンオレンジ、45 mg の  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、および 59 mg の  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  を 100 ml の濾過蒸留水に溶かした溶液で 3 分間染色した。乾燥したフィルターは、倍率 1250 倍の蛍光顕微鏡（フィルター < 515 nm、Zeiss）にて青色（390 - 490 nm）で検査され、各フィルターにつき 15 視野が計数された（ $1.1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{視野}$ ）。

②上記の改良法<sup>3)</sup>

ヌクリポアフィルター（0. 2  $\mu\text{m}$ 、直径=13mm）は、25mgのSudan blackを75mlの99%エタノールに溶かし75mlの脱塩水で希釈して作成したSudan black溶液であらかじめ予備染色した。そのフィルターは脱塩水で徹底的に洗ってから使用した。アクリジンオレンジ（AO）溶液はAOのみ文献2の1/10の濃度とした。AO溶液は10mlずつ保存した。すべての溶液と水はフィルターで滅菌した。試料の一部を予備染色したヌクリポアフィルター上で-20KPaで濾過し、AOで6分間染色した。以下は文献2と同様に行ったが、計測数は500-600細胞または15視野（0. 0064 mm<sup>2</sup>）とした。

<好気性従属栄養細菌数><sup>2)</sup>

好気性従属栄養細菌数は、各々異なる全有機物濃度（1. 5 g/l と 0. 15 g/l）の二つの培地を用いた平板計数法で判定した。使用した培地は、ペプトン0. 5 g、酵母エキス0. 5 g、ぶどう糖0. 25 g、でんぶん0. 25 g、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0. 2 g、MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0. 4 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0. 1 g、採取地下水の塩分濃度相当のNaCl、微量金属溶液1ml、寒天15 g、蒸留水1000 ml から成るもので、pHは滅菌後7. 5に調整された。この培地をMAとする。2番目の培地は、ペプトン、酵母エキス、ぶどう糖、およびでんぶんをMAの1/10の濃度で含んだ。これをMCとする。

微量金属溶液は、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2. 2 g、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 7. 34 g、MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 2. 5 g、CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0. 5 g、(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MoO<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 0. 5 g、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5 g、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0. 2 g、Na<sub>2</sub>EDTA 50 g、pH調整用NaOH、蒸留水1000 ml (pH 4. 0) から成る。

塗沫に先だつ試料の希釈のため希釈培地が用いられた。それは、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0. 2 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0. 4 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0. 1 g、採取地下水の塩分濃度相当のNaCl、濾過（0. 2  $\mu\text{m}$ ）蒸留水1000 ml から成る。

試料は蛍光テクニックで判定された全菌数の逆数に対応する濃度まで順次希釈し、寒天平板に三重で塗沫した（同じ塗沫操作を3枚の寒天平板に繰り返す）。MA平板は20°Cで7日間、MC平板は14日間インキュベーションした。

<通性嫌気性従属栄養細菌数><sup>3)</sup>

通性嫌気性従属栄養細菌数は1.5 g/lの有機物濃度の培地を用いた平板計数法で判定した。使用した培地は、ペプトン0.5 g、酵母エキス0.5 g、ぶどう糖0.25 g、デンプン0.25 g、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.2 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1 g、採取地下水の塩分濃度相当のNaCl微量金属溶液1 ml、寒天15 g、蒸留水1000 mlから成るもので、pHは滅菌後7.5に調整された。

微量金属溶液は、ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2.2 g、CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 7.34 g、MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 2.5 g、CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.5 g、(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MoO<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.5 g、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5 g、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.2 g、Na<sub>2</sub>EDTA 50 g、pH調整用NaOH、蒸留水1000 ml(pH 4.0)から成る。

塗沫に先だつ試料の希釈のため希釈培地が用いられた。それは、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.2 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.4 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1 g、採取地下水の塩分濃度相当のNaCl、脱塩水1000 mlから成る。試料は蛍光テクニックで判定された全菌数の逆数に対応する濃度まで順次希釈し、寒天平板に三重で塗沫した（同じ塗沫操作を3枚の寒天平板に繰り返す）。それらは20°Cで7日間、インキュベーションした。

（訳者注：以上の2項目は、文献では好気性従属栄養細菌数、嫌気性従属栄養細菌数とされているが、方法を見る限り、どちらも「好気性および通性嫌気性従属栄養細菌数」というべきであろう。）

<嫌気性従属栄養細菌数><sup>2)</sup>（訳者注：これはむしろ脱窒細菌数と言うべきであろう）

嫌気性従属栄養細菌数は好気性従属栄養細菌数と同様に判定したが、以下の追加を行った。MA培地とMC培地には水素受容体として1 lあたり1 gのKNO<sub>3</sub>を加えた。これらを各々MB、MDとする。平板は10%CO<sub>2</sub>と90%N<sub>2</sub>（Oxoid 嫌気システム）の嫌気的雰囲気で20°Cで7日（MB）または14日（MD）間インキュベーションした。

<チオバチルス類 (*Thiobacillus* と関連細菌) のための最確数 (MPN) ><sup>2)</sup>

MPNテクニックのために、通性嫌気性の *Thiobacillus* 類の集積用に開発された培地が用いられた。以下省略する。（訳者注：MPNとは、試料を10倍ずつ希釈していき各希釈段階で5本の液体培地に接種して5本のうち何本で増殖が見られたかを調べて統計処

理して試料中の細菌数を推定する方法である。精度は悪いが、固形培地でコロニーを作らせる方法より大きい値になることが多い。)

結果

文献<sup>2)</sup>および文献<sup>3)</sup>では、(1)サンプリング方法や(2)微生物計数方法の項で述べた方法を用いて実際に地下水の微生物数を測定している。その結果は以下のようにまとめられる。

①スエーデンHindasでの家庭用の深い井戸(深さ60m)から採取した地下水の全菌数は $(1-5) \times 10^5 / ml$ であった(表1.3.2-1)<sup>2)</sup>。

②スエーデンSimpevarp, Oskarshamnの原子力発電所に近いAvroのボーリング穴EV01(深さ420-635m)から採取した地下水の全菌数は $(1.3-4.1) \times 10^5 / ml$ であった(表1.3.2-2および表1.3.2-3)<sup>2)</sup>。

③EV01の地下水の好気性および嫌気性従属栄養細菌数は $(0.02-2) \times 10^5 / ml$ であり、全菌数の $1/10-1/100$ であった(表1.3.2-4)<sup>2)</sup>。

④EV01の地下水の*Thiobacillus*類の最確数は $80-1470 / ml$ であった<sup>2)</sup>。

⑤スエーデンStripa鉱山(深さ390-500m)の地下水の全菌数は $(0.1-2) \times 10^5 / ml$ であった(表1.3.2-5)<sup>2)</sup>。

⑥Stripa鉱山の地下水の好気性従属栄養細菌数は $50-700 / ml$ であった(表1.3.2-6)<sup>2)</sup>。

⑦スエーデンの各地のボーリング穴(深さ130-860m)からの地下水の全菌数は $(0.8-1.7) \times 10^5 / ml$ 、このうちガスサンプラー(試料を採取場所の状態のまま採れる)から採った地下水の全菌数は $(0.8-2) \times 10^5 / ml$ であった(表1.3.2-7)<sup>3)</sup>。

⑧上記における通性嫌気性従属栄養細菌数は全菌数の0.10-21.9%であった(表1.3.2-7)<sup>3)</sup>。

以上の深地層の地下水の全菌数の測定結果は、Ghiorse & Wilson(1988)による原始地下水(pristine groundwater)での全菌数の値 $10^3 - 10^8 / \text{ml}^{10)}$ の範囲内である。また、VanEs & Meyer-Reil(1982)による海洋での全菌数の値 $(0.1 - 264) \times 10^5 / \text{ml}^{10)}$ の範囲内である。また深地層の地下水の好気性従属栄養細菌数は、貧・中栄養湖での値 $10 - 10^2 / \text{ml}^{16)}$ よりむしろ大きい。こうして見ると深地層の細菌数は、土壌のように細菌の多い所での値(好気性および通性嫌気性従属栄養細菌数: 約 $10^7 / \text{g}$ )<sup>12)</sup>よりは少ないが、貧栄養の水域と比べると、決して少なくないと言える(表 1.3.2-9)。

### (3) 化学物質添加実験

上記の細菌数測定の限界を示す次の記述がある<sup>10)</sup>。「細菌数は、細菌共同体(community)についての価値ある情報を生むが、それらは必ずしもその共同体の動力学(dynamics)とそれらの処分場との相互関係を反映するものでない。対象となる生物の各々のグループの代謝活性を知ることが本質的である。」その一つの方法として、化学物質添加実験がある。やや異なる目的の実験かも知れないが、この手法を用いた実験結果の例を以下に記す。

地下水での微生物の増殖を制限する要因を調べる手段として、酸素瓶に酸素、水素受容体エネルギー源などをいろいろな条件で入れ、一定時間(120 - 144 h) 20°Cでインキュベーションして全菌数の変化を調べた。その結果、地下水に酸素を加えることによって全菌数が有意に増加し、他の水素受容体やエネルギー源の添加も場合により全菌数を増加させることができた(図 1.3.2-1、表 1.3.2-8)。酸素がGallionellaの増殖を促進したり、水素受容体( $\text{NO}_3^-$ など)と還元エネルギー源( $\text{S}^{2-}$ など)の組み合わせが化学合成独立栄養生物を増加させたりしたことから、地下水は多くの微生物種の潜伏所(harbours)と考えられる。そして、各微生物はそれら特有の制限要因への要求を持ちながら<sup>2)</sup>。

### (4) トレーサーによる活性測定

まだ、実施例は少ないが、地下水から採取した個々の細菌に酢酸( ${}^3\text{H}-0.4 - 0.2 \mu\text{Ci}/\text{ml}$ )を加えたテストが行われた<sup>3)</sup>。その結果、全菌数の1.4 - 15%が酢酸取り込み活性を示した。これをベースに、更に効果的な実験が追究されている<sup>10)</sup>。

表 1.3.2-1 Hindasの60mの深さの対象井戸の水の全菌数 (N : 全菌数)<sup>2)</sup>

Table 1-1 The total number of bacteria as determined with the fluorescence technique in the water from the 60 m deep reference well in Hindås. N = number of observations. S.D. = standard deviation.

Date	Cells ml/10 <sup>5</sup>	(N)	(S.D.)
860316	2.40	30	0.48
860902	2.88	30	1.50
860923	2.32	30	1.01
861027	2.73	30	1.34
870928	2.39	45	0.72
871014	4.74	15	1.2
871019	0.94	30	0.78
871110	1.78	30	0.39

表 1.3.2-2 ボーリング孔EV01での異なるサンプリング場所の影響 (N : 全菌数)<sup>2)</sup>

Table 3-8 The effect from different sampling sites at bore-hole EV01. N is the number of observations on which the mean is based. Means with the same letter of grouping are not significantly different. pr > F is the probability of getting an F-value smaller than the obtained for the model effect

Sampling site	Date	Cells/ ml · 10 <sup>5</sup>	N	Grouping	pr > F for model
Field lab	870421	1.30	105	A	0.0001
Outside field lab	870421	4.00	15	B	
-----	-----	-----	-----	-----	-----
Field lab	870604	3.82	45	A	
Field lab without the electrode system	870604	3.97	30	A	0.0001
Borehole sond	870604	9.97	15	B	
-----	-----	-----	-----	-----	-----
Field lab	870826	3.31	60	A	0.0001
Gas sampler	870826	41.2	15	B	

表 1.3.2-3 Field laboでの全菌数<sup>2)</sup>

Table 3-9 The total number of cells in the field lab

Date	Level	Cells/ml · 10 <sup>5</sup>	N
870421	635 m	1.30	105
870604	558 m	3.82	45
870826	522 m	3.31	30
870923	420 m	16.6	45

表 1.3.2-4 EV01での好気性および嫌気性従属栄養細菌数<sup>2)</sup>

Table 3-10 The number of aerobic and anaerobic heterotrophs in EV01. MA-MD refer to the media composition. The numbers within parentheses indicate the distribution error under Poisson assumption of distribution

Date level	Cells/ml · 10 <sup>5</sup>					
	aerobes		aerobes		anaerobes	
	field lab MA	MC	gas sampler MA	MB	field lab MD	MD
870828 522 m	0.0219 (±0.0008)	-	2.09 (±0.797)	-	-	-
870923 420 m	0.0249 (±0.0009)	0.0233 (±0.0008)	-	-	0.0347 (±0.001)	0.0034 (±0.0003)

表 1.3.2-5 Stripa鉱山のボーリング孔V1およびV2での全菌数<sup>2)</sup>

Table 3-11 The total number of bacteria/ml in the V1 and V2 boreholes in the Stripa mine, sampled 870917. Mean with the same letter of grouping are not significantly different

Level		Cells/ml • 10 <sup>5</sup>	N	Grouping
V1	500-505.9 m (+ 360 m)	0.060	30	A
V2:1	559-822 m (+ 410 m)	2.26	15	B
V2:4	402-410 m (+ 410 m)	0.061	15	A
V2:5	389-397 m (+ 410 m)	0.097	15	C

表 1.3.2-6 ボーリング孔V1とV2での好気性従属栄養細菌数とカビ(mould) の数<sup>2)</sup>

Table 3-12 The number of aerobic heterotrophic bacteria and moulds in the V1 and V2 boreholes, sampled 870917. The numbers within parentheses indicate the distribution error under Poisson assumption of distribution

level	cells/ml • 10 <sup>5</sup>			
	aerobic bacteria		moulds	
	MA	MC	MA	MC
V1				
500-505.9 m (+ 360 m)	0.0005 (±0.0002)	0.0006 (±0.0002)	0	0
V2:1				
559-822 m (+ 410 m)	0.0072 (±0.0008)	0.009 (±0.0009)	0.0063 (±0.0008)	0.0023 (±0.0005)
V2:4				
402-410 m (+ 410 m)	0.0028 (+0.0005)	-	0.0017 (±0.0004)	-
V2:5				
389-397 m (+ 410 m)	0.0051 (±0.0007)	0.0058 (±0.0008)	0.0017 (±0.0004)	0.0013 (±0.0004)

表 1.3.2-7 三つのボーリング孔 KAV01、KAS02 および KLX01 での全菌数  
(Total no.) および生菌数 (viable count)<sup>3)</sup>

Table 3-1 The table shows the total number of bacteria in the three studied boreholes, KAV01, KAS02 and KLX01. The total numbers of bacteria were determined with epi-fluorescence microscopy after staining with acridine orange. The viable counts were determined as plate counts. The percentage of the total number of bacteria that could be counted as a viable count (v.c) has been calculated. G= Gas sampler, F=Field lab.

Date of bore-sampling	bore-hole code	Analyse code	Depth m	Total no. cells ml <sup>-1</sup> x 10 <sup>5</sup>	Viable count (v.c) cells ml <sup>-1</sup> x 10 <sup>3</sup>	% v.c av total no.
870923	KAV01		420	16.6 (F)	2.49	0.15
870826	KAV01		522	3.31 (F)	2.19	0.66
870604	KAV01		558	3.82 (F)	-	-
870421	KAV01		635	1.30 (F)	-	-
881209	KLX01	KBS 1538	272	2.05 (F)	0.21	0.10
881123	KLX01	KBS 1528	466	1.10 (F)	15.3	13.9
881102	KLX01	KBS 1516	680	1.68 (F)	3.30	1.96
890111	KAS02	KBS 1548	202	1.15 (G)	1.14	0.99
880412	KAS02	KBS 1419	314	0.79 (G)	4.93	6.24
880426	KAS02	KBS 1428	463	1.71 (G)	37.6	21.9
890131	KAS02	KBS 1560	860	1.15 (G)	0.81	0.70
890222	KAS03	KBS 1569	129	2.00 (G)	6.1	3.05

Figure 3-1 The effect from oxygen on the microbial population in the reference well water

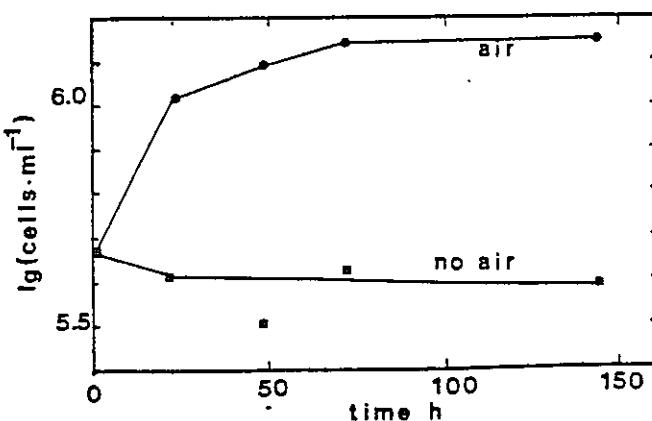


図 1.3.2-1 対象井戸の微生物個体群に対する酸素の影響<sup>2)</sup>

表 1.3.2-8 地下水の120 時間後の全菌数に対する異なる化学物質添加の影響  
(N : 全菌数) <sup>2)</sup>

Table 3-4 The effect from different additions on the total number of bacteria/ml in ground water after 120 h. N is the number of observations on which the mean is based. Means with the same letter of grouping are not significantly different. GF shows the increase of cells for each addition compared with no addition

Addition	Cells/ml·10 <sup>5</sup>	N	Grouping	GF
no addition	4.57	30	A	1.00
S <sup>2-</sup>	4.57	30	A	1.00
Fe <sup>2+</sup>	4.80	30	A	1.05
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	4.88	30	A	1.07
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	6.07	30	B	1.32
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	6.22	30	D	1.36
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	6.92	30	C D	1.51
S <sup>2-</sup> +SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	6.96	30	E C D	1.52
Fe <sup>2+</sup> +SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	7.42	30	E C	1.62
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7.60	30	E C	1.66
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	7.99	30	E F	1.75
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	8.65	30	F G	1.89
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> +Fe <sup>2+</sup>	9.48	30	H G	2.07
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +Fe <sup>3+</sup>	10.6	30	H	2.32
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +S <sup>2-</sup>	12.1	30	I	2.64
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> +S <sup>2-</sup>	12.6	30	I J	2.75
Oxygen (Air)	14.0	30	J	3.06
Nutrient broth	213	30	K	46.6

表 1.3.2-9 異なる環境下における微生物計数結果の比較

環境			全菌数 ( $\times 10^5$ / ml)	好気性および通性嫌気性 細菌数 ( $\times 10^3$ / ml)	文献
地下水	深さ	60 m	1 ~ 5	-	2)
地下水	深さ	390~635 m	0.1~ 40	0.05~200	2)
地下水	深さ	130~860 m	0.8~ 2	0.2 ~ 40	3)
河川水	多摩川上~下流		7 ~100	30 ~3000	20)
貧栄養湖	本栖湖		0.2~ 2	0.03~ 1	16) 21)
海洋			0.1~264	0.01~ 1	10) 22)
土壤			$10^8 \sim 10^9$ / g 乾土	約 $10^7$ / g 乾土	12)

## 1. 3. 3 微生物の種類

地下水でどういう微生物に着目すべきかは、次のように考えられる。

地下水には有機栄養素が非常に少ないので、土着の微生物相は大方低栄養かつ／または化学合成的代謝に依存している。いくつかのグループは無機の還元エネルギー源、二酸化炭素、無機の水素受容体および無機塩のみで生存するが、これらが増殖すると有機物を生産し、従属栄養細菌に使われる。化学合成無機栄養生物の *Thiobacillus* 類と、低栄養環境のスペシャリストの *Caulobacter*, *Hyphomicrobium* が調べた水中に見出だされていることは、この仮定を支持する<sup>2)</sup>。

また、地下水には酸素が少なく、酸化還元電位が低いので、嫌気性細菌と通性嫌気性細菌に注目することは筋がとおる。脱窒、硫酸塩還元、およびメタン生成細菌がこれに適合する<sup>10)</sup>。

文献<sup>3)</sup>で調べられた地下水には、硫化水素、メタンおよび水素が硫酸塩と一酸化炭素、二酸化炭素とともに存在した。メタンの存在はメタン生成生物の存在を示唆する。また硫化水素は異化的硫酸塩還元細菌により生産された可能性がある。なお、地質学的形成もこれらのガスの存在を説明し得る。嫌気性細菌の集積培養の結果は C-1 化合物を水素および二酸化炭素とともに利用して増殖可能な嫌気性細菌、おそらくメタン生成細菌の存在を示唆した。調査した地下水の細菌群のかなりの部分は、非常に遅い増殖速度で機能しているメタン生成生物と硫酸塩還元細菌から成るというのが、現在の仮説である<sup>3)</sup>。

しかし、実際どういう微生物が地下水で優占しているかの確認は、これから的研究に待たなければならない。

### 1.3.4 微生物と処分場の関係

微生物の存在、活動と処分場の建設、閉鎖の過程を関連づけて考えてみる。まず微生物は処分場を作ろうとする地中にはもともと存在していると考えてよい<sup>1) 4) 7)</sup>。一方処分場の建設では当然のことながら外界（地表）から穴を掘り、人間が入り器材を搬入して作業をする。また、今までそこにはなかった新しい材料を持ち込んだり埋設したりする。こうした作業を通じて微生物が新たに地下環境に持ち込まれることも十分考えられる<sup>7)</sup>。つまり、処分場の微生物を考えるときには、土着(Autochthonous, Resident, Indigenous)と外来性(Allochthonous, Introduced)の2つの起源を持つ微生物を考える必要がある<sup>1)</sup>。

外来性の微生物とは例えば、ドリルで穴を掘る時に、地下環境を全く汚さずにそれができるというようなことは不可能であって、道具を通して、あるいは水や空気の流入によって微生物が処分場に持ち込まれるということである。またそれだけではなく、作業をする人間や作業用の器材、装置、運搬車両などに伴っても微生物は持ち込まれる。さらに処分体の埋設や、処分場の閉鎖の段階になると緩衝材や埋め戻し材が搬入され、これらの材料と共にまた微生物が持ち込まれる。細かいことをいえば建設中に近くの植物の葉や花粉が舞い込んだり、鳥や動物の糞が落ち込んだりと処分孔がいろいろなものの受け皿になってしまうことも考えられる<sup>7)</sup>。なお埋め戻し材／緩衝材材質中に含まれる微生物数測定例を表 1.3.4-1に示す。

一方、処分場の建設・閉鎖の作業を通じて、地下環境そのものも変化することが考えられる。文献<sup>1) 4) 7)</sup>では、処分場とその運転の主な生物学的影響として、前述のような外来性微生物の導入の問題以外に、次の問題があると述べている。

#### a. 栄養塩やエネルギー源の供給

広い範囲の栄養塩やエネルギー源が、廃棄物、処分体 (packaging)、埋め戻し材 (backfill)、構造物、および運転中避けることのできない有機性混入物から供給されることが予想される<sup>1)</sup>。中レベル廃棄物では、粒状イオン交換樹脂と汚泥が有機物を含む。

#### b. 当初の酸化的環境の形成

自然の地下環境は還元的であるが、処分場では放射線分解 (radiolysis) の過程で酸化状態のまま維持され得る<sup>1)</sup>。

c. 放射能增加

d. 温度条件の変化

処分孔での埋め戻し材の予想最高温度は100°Cであろう。燃料が処分された場合は、10000年以上の間75-100°Cになるだろう。処分孔の外の岩盤になると、温度は10-100°Cとなるだろう<sup>4)</sup>。

e. pHの変化

中レベル廃棄物では、コンクリート廃棄物のpHが高くなる(>12)ことも考えられるが、水に浸ればpHは中性に近付く<sup>7)</sup>。

f. 微生物に有毒な物質(Pb、Cuなど)の存在<sup>11)</sup>

こういう地下環境の変化のうち、aは微生物の生存・増殖に有利に働く。即ち、本来の地下環境で微生物増殖を制限していた因子(例えば有機物)が持ち込まれるので、微生物増殖が促進される。しかし、どの程度持ち込まれ、どの程度増殖が促進されるかの予測は今後の検討に待たなければならない。一方、c、eおよびfは微生物の生存・増殖に不利に働くcについては後述(4.(2))するが、eについては極端な高pHでも、ある種の*Nitrobacter*とある種の*Nitrosomonas*はともに好塩基性(basophile)で高アルカリ条件(>pH13)に耐えられる<sup>7)</sup>など(表1.3.1-6および表1.3.1-7)、微生物は対応して生存・増殖できる可能性がある。fについては、表1.3.1-7にPb、Cu耐性微生物が紹介されている。b、dの微生物の生存・増殖への影響は、促進・抑制の両方が考えられる。処分場の温度は、一般の微生物にとっての最適温度(30-40°C)より相当高くなるが、少なくとも一部の微生物は100°Cという温度で生存・増殖できる(表1.3.1-5-表1.3.1-7)。

このように処分場建設と運転により変化した地下環境においても、増殖に必要な栄養源の増加と微生物の多様性が微生物繁殖を生み出すことになると予想される。しかしその後の経過は、関与する微生物の種類、微生物同志の相互作用、あるいは環境条件によって様々な変化することになるので、一律には決めるとはできないのが現状である<sup>11)</sup>。

なお、地中からのサンプリング微生物について、それが土着/外来性のどちらに属するものかを確かめることは非常に難しいといわれている。それは例えサンプリングが十分にコントロールされたものであっても、サイトの掘削過程での不可避的な汚染(混入)があ

るからである<sup>11</sup>。

表 1.3.4-1 埋め戻し材／緩衝材材質中に混入する微生物数<sup>7)</sup>

Table 7

Numbers of contaminating micro-organisms in backfill/ buffer materials  
 (after Mayfield and Barker, 1982b)

Culture Medium	Backfill material						
	Pembina mountain clay	Avonlea oilwell bentonite	Inco tailings	Domtar Seal Bond	Sodium bentonite	Manitoba clay	Dresser Minerals bentonite
PDA	4 100	4 600	112	660	5 000	288 000	1 100
TSA	24 000	64 200	1 100	86 300	9 600	1 100 000	1 100
SEA	19 000	110 000	1 500	150 000	20 300	3 050 000	1 400
NF	920	12 000	-	3 600	2 800	120 000	200
PYE	12 300	14 000	1 000	100*	100*	110 000	110*
MS	8 000	92 000	1 100	3 200	5 600	480 000	1 200
TGE	16 300	32 300	2 200	21 000	9 400	480 000	2 200
NA	14 400	101 000	1 100	26 000	8 200	1 106 000	6 300

Media; PDA - Potato dextrose; TSA - Trypticase Soy; SEA - Soil Extract; NF - Nitrogen free;  
 PYE - Peptone yeast extract; MS - Mineral salts; TGE - Tryptone glucose; NA - Nutrient agar.

A dash (-) represents no micro-organisms were identified

An asterisk (\*) represents low counts, indicates "sporadic" occurrence of bacteria

## 1.4 処分場環境における微生物の活動

### 1.4.1 微生物の活動

以上述べてきたとおり、処分場環境は温度、圧力、放射能などの面で、微生物にとって必ずしも好適ではないが、ある種の微生物はそれに耐えて生存・増殖し様々な活動をすると予想される。その活動の内容は、1.1.2 で述べた微生物の機能によっている。

まず、外界の化学物質を取り込み、物質代謝によって化学変化させて各種化合物を外界に排出する。排出される化合物の中には、閉じ込め材料に直接作用するものとして硫酸塩還元細菌による硫化水素や酵素ヒドロゲナーゼ、金属と錯体を作るキレート剤、界面活性剤などがある。ある種の微生物（硫黄酸化細菌、硝化細菌など）の物質代謝は外界の pH を変化させコンクリートの腐食を促進したりする。

金属イオンの微生物細胞への取り込みも無視できない現象である。これは細胞膜の機能と関係が深いと思われる。細胞膜には、細胞内外の物質の濃度勾配に逆らって物質を膜の外から内へ、あるいは逆方向に移動させ得る能動輸送という機能が備わっている。 $Mg^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ のような2価イオンについて能動輸送が知られている（ $Cd^{2+}$ の取り込みもそれに関係すると推定されている）<sup>18)</sup>。

細胞膜を透過するかどうかは別として、微生物が金属を周囲の環境よりはるかに高濃度に濃縮する現象は数多く報告されている。例えば *Pseudomonas aeruginosa* と *Saccharomyces cerevisiae* がウランを細胞乾燥重量の 15% 以上の濃度まで効果的に濃縮することが示された<sup>2)</sup>。

微生物の増殖は、物質代謝による化学変化の総量を増加させるほか、それ自体、材料の空隙を埋めたりする効果を持つ。

微生物細胞の表面構造である細胞壁、鞘、カプセル、スライムは、微生物への他の物質の吸着や、逆に微生物の他の固体への吸着に関係する。べん毛は微生物の移動に関係する。

#### 1.4.2 放射線の微生物への影響

ここでは、処分場環境で重要な因子の一つである放射線の影響についてまとめた。放射線の微生物への影響として、突然変異の増加による微生物の多様化という面も否定できないが、総合的には放射線はDNAを損傷し微生物の死滅を促進すると考えて良い。コバルト60の照射量と微生物生存割合の関係測定例<sup>19)</sup>では、 $5 \times 10^5$  radで99.999%の微生物が死滅している(図1.4.2-1、図1.4.2-2)。しかし処分場環境でも放射線源からある程度離れれば、一部の微生物は放射線に耐えて増殖を続け、活動をすることになるだろう。問題は、そういう放射線抵抗性微生物が活動できる限界の放射線量がいくらかであろう。

文献<sup>7)</sup>によれば、放射線に対する微生物の感受性は種、細胞の齢、増殖の前歴、懸濁している培地、放射能処理強度、温度、および残存生物回復用培地によって変化する。他の微生物に比べて最も低い耐性は大腸菌(*Escherichia coli*)と緑膿菌(*Pseudomonas*)の一種で見出だされた。100Gy(10,000rad)の放射線処理から生存生物数は100倍のファクターで減少した。逆に*Micrococcus radiodurans*は放射能に対し注目すべき耐性を示す。この種は60,000Gy単一処理で生存できた。

比較のため言えば、食糧の殺菌のため使用される平均処理量は10,000Gy(1Mrad)前後である。一方医薬生産物のためには通常の処理量は25,000Gy(2.5 Mrad)に上がる<sup>7)</sup>。

また文献<sup>6)</sup>によれば、微生物は放射性殺菌効果(radiolytic effect)に対し非常に広い反応の仕方を示す。一生物*Micrococcus radiodurans*は $5 \times 13$ Gyの単一照射に耐えることが見出だされた。また微生物は、Three Mile 島の炉心(reactor core)で10 Sv/hrまで残存することが観察された。文献<sup>1)</sup>によれば、微生物の一種*Micrococcus radiodurans*は $5 \times 10^5$  radの放射線に耐えられた。

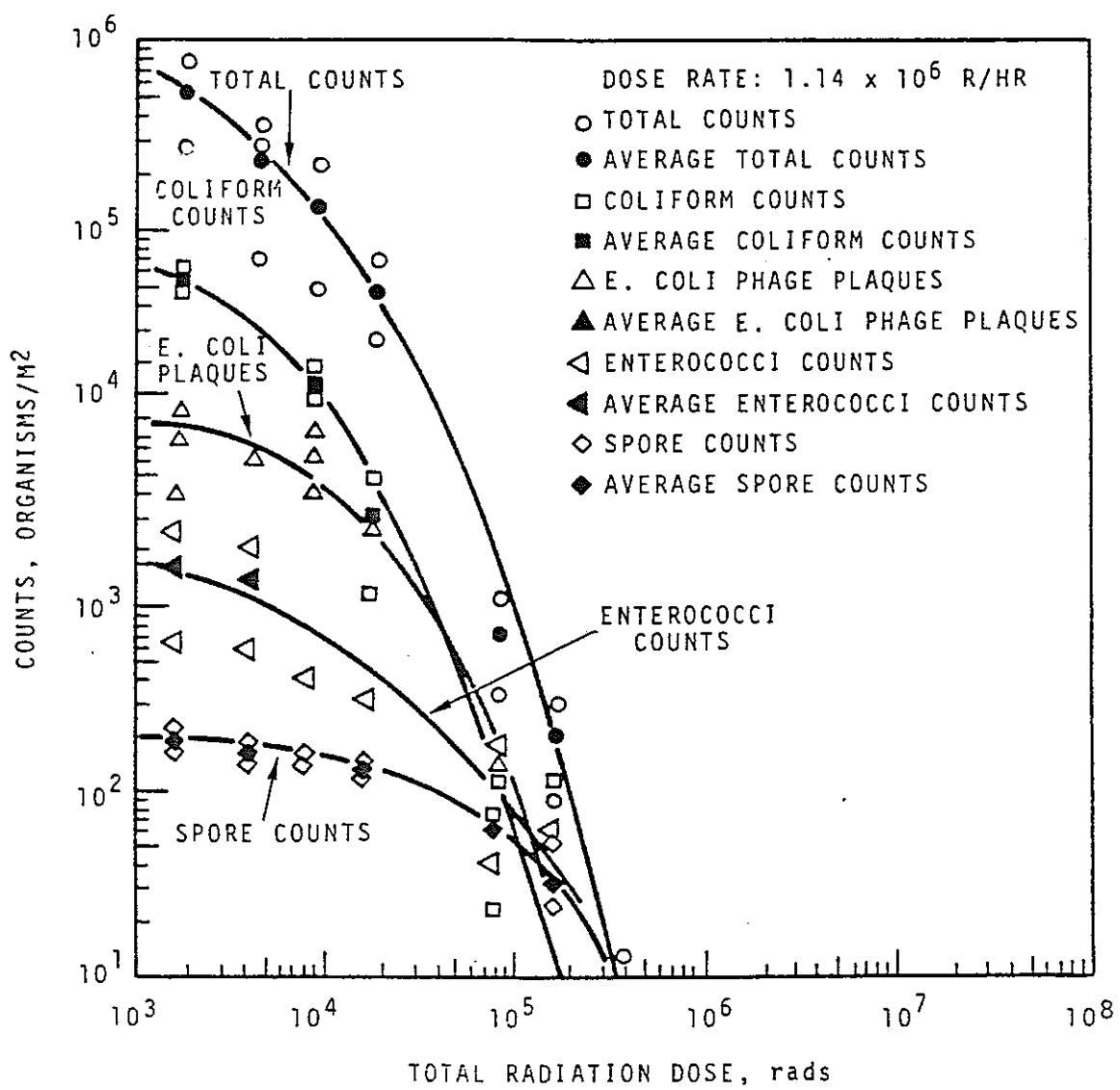


FIGURE 14. THE EFFECTS OF COBALT 60 IRRADIATION ON FIVE ORGANISMS IN SECONDARY EFFLUENT<sup>66</sup>

図 1.4.2-1 5種の生物に対するコバルト60照射の影響

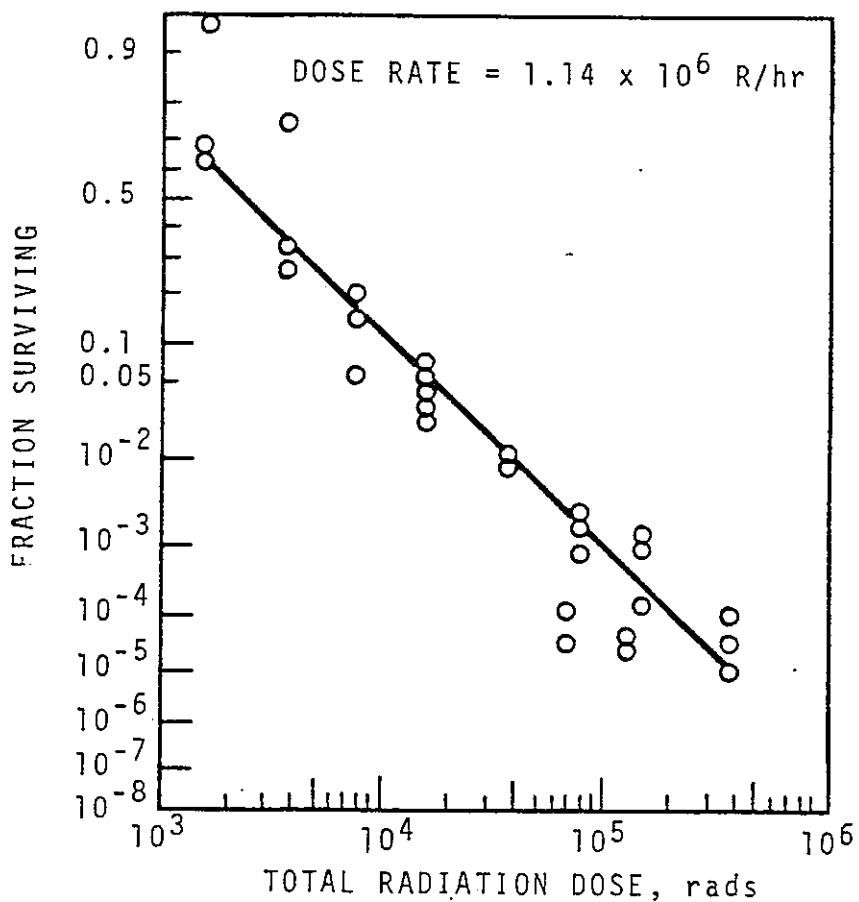


FIGURE 15. TOTAL COUNT VERSUS RADIATION DOSE  
IN SECONDARY EFFLUENT<sup>66</sup>

図 1.4.2-2 照射量と生存率の関係

66. Touhill, C. J., et al. "The Effects of Radiation on Chicago Metropolitan Sanitary District Municipal and Industrial Wastewaters." Journal WPCF, p. R44, 1969.

### 1.4.3 微生物の地下環境への影響

ここでは、地下環境あるいは処分場の環境を直接、間接に変化させる微生物の活動について、原理、メカニズムなどをできるだけ広くまとめる。

#### (1) 概要

まず、処分体に近いニアフィールドの閉じ込め材料に対する微生物の影響を整理すると、主要なものは大体次の5項目になる<sup>(6)</sup>。

- ①材料への直接作用（生物的劣化）
- ②物理的破壊
- ③ガス生成
- ④地下水の化学的性質の変化
- ⑤核種の取り込み

材料への直接作用とは、例えばコンクリートのような無機材料、ビチューメン、プラスチックなどの有機材料、そして銅、鉄などの金属材料が、微生物によって直接劣化されたり、腐食したりすることである。放射性廃棄物の処分とは直接関係しないが、地中に埋設するヒューム管や鉄製の各種構造物や配管などの経験から、この作用の存在については良く知られている。

物理的破壊とは、微生物の作用によって例えば処分体の閉込め容器に亀裂が生じたり、酸化被膜が壊されたりすることをいう。<sup>(6)(1)(4)</sup>

ガス生成はこれだけが単独で生じるというよりも、上記の①②の2つの項目の作用の結果ガスが発生するといわれている。とくに有機物への微生物の作用はガス生成を伴いやすく、メタン、二酸化炭素、水素の発生が多く、このガスを構成している元素の一部が放射性元素(<sup>3</sup>Hあるいは<sup>14</sup>Cなど)を含んでいることが報告されている。<sup>(6)(5)</sup>

地下水の化学的性質の変化というのは、微生物の代謝の結果生じる現象といわれていて、地下水のpH, Ehを変化させたり、材料の腐食、核種生成、吸着プロセスに影響を与える。

<sup>(1)(6)(4)</sup>

最後の核種の取り込みというのは、微生物が一般的に溶液中に溶けた微量の金属を濃縮

する性質を持っていることに起因する現象で、これには微生物自身の中に核種を取り込んでしまうものと、微生物の外側の細胞膜の表面に核種が吸着するものとの2つの型がある  
(1) (4) (6) (5)。

以上の現象に関して微生物の活動と、その作用の情報源となる現象のアウトラインを図 1.4.3-1 にまとめる<sup>1)</sup>。なおこの問題については他の文献でも扱っているので以下にまとめておく。

#### 文献 1) より

処分場の環境に関する微生物の活動の参考になるものとして油田や鉱山の経験がある。これらの産業では、地下構造物の微生物による劣化が良く知られており、場所によっては重大な問題となる得る。こうした経験を基にして処分体の破損あるいは核種移行に対する直接間接の微生物の活動を考えると、次のようにプロセスがある。

- 上記①関連（生物的劣化）
  - ：微生物による材料（例、コンクリート、ビチューメン、プラスチック）の直接的な破壊。
- 上記②関連（物理的破壊）
  - ：金属の酸化皮膜の破壊が最重要。
- 上記④関連（核種の直接取り込み）
  - ：結果的に核種の移動度に影響する。
- 上記⑤関連（地下水の化学的性質の変化）
  - ：微生物の代謝によるEh, pH, および有機物濃度の大きな変化が考えられ、これが材料の腐食、核種の形成、吸着プロセスを変化させる。

しかし現在はこれらについて定量化することは不可能で、ある特定のプロセスの効果についても十分知られていないのが現状である。例えば金属酸化皮膜の破壊にしても、これが起こればキャニスターの腐食速度を増加させると直観的には思える。しかし放射線分解による酸化剤の生成があるのであれば、腐食速度の増加はこうした作用の集合として今のところは考えざるを得ない。pH, Eh などの地球化学的な条件の微生物の活動による変化の結果についても推測することは難しい。<sup>1)</sup>

文献 4) より

処分場の環境を変化させ、核種移行に影響を及ぼす直接的あるいは間接的な微生物の代謝は数多くある。最終的には核種の移動度を変化させるプロセスについては次のようにいわれている。

・上記①関連（生物的劣化）

：処分孔中の材料の劣化。これが核種の放出速度を増加させる。微生物はコンクリート、ピチューメン、ガラス、鉄のような金属類の上で成長してそれらを劣化することは良く知られている。

・上記④関連（核種の直接取り込み）

- a. 金属の代謝は錯体生成、揮発および原子価の変化を直接もたらす。
- b. 移動する微生物に取り込まれるか表面に吸着した汚染物質の物理的な輸送（ただし、もし微生物がある所に固定したり、細胞が死んで吸着した細胞に金属が残ったりすれば汚染の拡大ではなく防止として作用する）。
- c. 移動する微生物への吸着による埋め戻し材からのファインの物理的除去。

・上記⑤関連（地下水の化学的性質の変化）

- a. 系の酸化還元条件の変化は多原子価の元素、例えばアクチニド元素類の化学的な形成（Speciation）と移動度(Mobility)に影響する。
- b. 微生物の代謝による有機副産物によるキレートの生成は、人工あるいは天然の有機物どちらもある種の核種の移動度を大きく変える。
- c. 表面活性剤の生成。

・それ以外の作用

- a. 吸着部分への微生物の収着による、緩衝材、埋め戻し材あるいは岩体の吸着特性の変化。これは、本来の吸着サイトのマスキングとなって汚染物質の吸着量を減らしたり、あるいは微生物によって新しい表面が生成して吸着を増やす方に働く場合の 2 つがある。
- b. 材料の空隙への増殖とそれによる空隙の充填。

この様にプロセスは種々考えられるが、処分場に固有のデータが不足しているので、このうちのどのプロセスが生じるのかを特定することは難しい。しかしこの中のいくつかはいづれの地層でも起こり得る<sup>4)</sup>。

それでは廃棄物パッケージや緩衝材、埋め戻し材への微生物の影響についていくつかの調査例を次に整理する。

## (2) 材料の劣化について

処分場について比較的調査、検討されているのはLLW, ILWなどの浅地層処分に関してである。例えばビチューメンや樹脂である。鉄も処分容器として使われるので検討されている。またBackfill材として粘土に関する調査もある。従って、これらについて考えることでHLWの深地層についてもなんらかの知見が得られると考えられる。以下に主としてILWの浅地層処分に関して調査した内容をまとめる。

まず全体の傾向として、廃棄物パッケージやその周辺にある材料への微生物の影響は様々にいわれている。影響は小さいとか、まだ十分に検討されていないとか、その活動は決して無視できない、とかいうものである。いづれが正しいというものではなくにかが起こり得るが、それを特定したり、定量的に評価したりするところまではまだ行っていない、というのが本当のところである。<sup>1) 5) 7)</sup>

### ①ビチューメン

まずILWの処分ではヨーロッパ諸国、米国などで使用されているビチューメンがあるが、製造の過程で80~195℃に加熱されることから、微生物は死んでしまうだろうという考え方がある。確かに加熱による殺菌は広く利用されているが、しかし冷却され処分場におかれた後に外部の微生物源からの再汚染が十分考えられる。例えば、アスファルト堆積層から分離、確認された微生物としてCorynebacterium lepusとPseudomonas asphenticusがある。またフランスのラ・アーグの処分場での土壤の分析によると、Pseudomonas sp, Bacillus sp, Flavobacterium sp, そしてAspergillus fumigatusの4つの種が見つかっていて、6ヶ月後には窒素固定細菌とアンモニア細菌の2つのグループの増殖が認められたという（表 1.4.3-1, 表 1.4.3-2）。この2つの細菌についてはそれぞれ4つづつの種が確認されているが、詳細の検討は現在進行中である<sup>7)</sup>。

このビチューメン固化については殺菌剤を加えずに固化すべきではないという意見があ

る。これは周囲の土壤と直接接するビチューメンはその条件で存在する好気性微生物によって着実に劣化していくことを警告しているものである。つまりビチューメンは炭化水素化合物の混合体であって、これらの内のあるものは水溶性であり、水中に溶け出していくことは避けられない。これが生物的に劣化されやすいものであり、微生物の活動を助けているという。ただ、こうした化合物によって維持されていく代謝の経路というものは好気性である、という制限があり、この条件が埋め戻された（閉鎖された）処分場で整うかどうかが今の所はっきりしていない<sup>7)</sup>。

### ②樹脂

またILWの処分閉じ込め材として考えられているものに樹脂-エポキシ樹脂とポリウレタンの2種一がある。樹脂の微生物に対する劣化の抵抗性についてはビチューメン、コンクリート以上に分かっていない。ただいくつかの樹脂サンプルを使って、好気性条件下で微生物の培養を行い、“明らかな生息”から“ほとんど成長なし”までを調べた例がある（表1.4.3-3）。それによると、エポキシ樹脂とポリウレタンはほとんど微生物の成長を助けることはないようである。しかし、硬化したエポキシ樹脂では2種類の微生物（*Aspergillus niger*と*A. fumigatus*）の成長が確認されている。また、ILWの閉じ込めには用いないが、エポキシ樹脂とコールタールの混合物の中で*Pseudomonas aeruginosa*の成長が確認されていることにも注意すべきである。<sup>7)</sup>

### ③鉄

一方処分容器として鉄製のドラム缶がILWには使われる。このドラム缶が核種移行のバリアのひとつになるが、嫌気性の条件下では硫酸塩還元菌（SRB, Sulphate reducing bacteria）が鉄を腐食させる。その特徴は、

- a. 粘土や水が染み込んだ土壤のように嫌気性の環境下であること。
- b. 全面腐食よりも孔食（微生物による腐食は広範囲の劣化というよりも局部的な腐食となる傾向がある）。
- c. 腐食部分がグラファイト化する。

SRBは酵素を分泌して鉄表面の酸化被膜を取り除き、腐食生成物として水酸化鉄と硫化

鉄を生成する。処分場の閉鎖後、水が染み込んだ埋め戻し材はSRB の住家になるだろうといわれている。仮に初期の好気性の条件が最終的になくなるとすれば、嫌気性の活動が活発になってくる。ただコンクリートが存在すると、高いpHのために鉄製ドラム缶の微生物腐食は押さえられるようである<sup>7)</sup>。

#### ④緩衝材、埋め戻し材

以上は処分体自身の微生物による劣化であるが、もうひとつ処分場の材料で重要なものは処分体周囲に設置される緩衝材、埋め戻し材についてである。

これらの材料は、処分体周囲へ水が浸入することへのバリアと処分体側からの核種移行に対するバリアの2つの機能を持つ重要なものである。埋め戻し材についてはその中（地下水中）に含まれると予想される主要な核種について、その存在形態（イオン状態、化合物形態など）が研究されている。表 1.4.3-4 に最終的に埋め戻し材の中に存在して地下水へ移行する主要な核種移行（陽イオン、陰イオン、水酸化物など）を示すが、そこでの核種の移行、固定に対する化学的、微生物学的プロセスについて情報は十分では無い<sup>7)</sup>。

しかし、7種類の埋め戻し材について、いろいろな栄養素、模擬地下水、鉱物溶解液を用いて、その中の微生物の活動を調べた研究例がある。それによると、広範囲に渡る微生物がいろいろな埋め戻し材の中で見つかっている（表 1.4.3-5）<sup>7)</sup>。その多くは桿状細菌で、長さは1.0～5.0 μmあり、放線菌類（Actinomycetes）が多く、菌類（Fungi）と酵母菌類（Yeasts）は余り多くはなかった。全体の4/5の微生物が土壤の粒子にくっついて、残りの1/5は材料の中で自由に存在していた。ただし埋め戻し材の中での長期にわたる微生物の活動を予測することの難しさも指摘されている。それによると、微生物は有機物、窒素、イオウ、リンなどの栄養源があれば、それによってある量の微生物の活動が決まる<sup>7)</sup>。

#### （3）ガス生成について

前述したようにガス生成は微生物の新陳代謝によって生成される。生成ガスはメタン、二酸化炭素が主で、これに含まれる炭素原子、水素原子が放射性同位体によって置換されているという。例えば、<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>、<sup>14</sup>CH<sub>4</sub>、CH<sub>3</sub>T、などである。また、この生成に関与する微生物はメタン生成細菌であるといわれている<sup>5)6)</sup>。

処分場の環境を考えた時に最も可能性が高く、注意が必要なのは、処分孔の中で起こりがちな無酸素状態（Anoxic Condition）ということからメタン生成細菌の活動といわれてい

る<sup>5) 6)</sup>。トリチウムやカーボン14を含むガスに関しては、米国、West Valley のLLW 処分トレンチからのガス漏洩の例がある。ここでは、CH<sub>3</sub>T、HTO、HT、あるいはトリチウム含有の炭化水素、<sup>14</sup>CH<sub>4</sub>、<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> およびカーボン14を含む炭化水素などが確認されているが、これらの他に<sup>85</sup>Kr、<sup>222</sup>Rnも検出されている。この中ではトリチウムを含むメタン：CH<sub>3</sub>Tが最も豊富にあるといわれ、年間1/10～2Ciが放出されている<sup>5)</sup>。

それでは微生物によるトリチウムの輸送についていくつかの例を挙げる。LLW 処分場からの浸出液を無酸素状態で採取し不活性雰囲気下でメタン生成菌(Methanogen)を培養し、<sup>14</sup>CH<sub>4</sub> やCH<sub>3</sub>Tを生成する活動を観測した例がある。それによると、雰囲気によるメタンガスの生成量の違いはあるが(表 1.3.4-6)、ガス生成の過程は、メタン生成菌が<sup>14</sup>CやTを含む炭化水素を代謝活動によって摂取し、代謝生成物としてこれらの化合物を生み出している。また、炭素源の存在下でトリチウム水：HTOを摂取してトリチウム含有メタン：CH<sub>3</sub>Tを生成する例も報告されている<sup>5)</sup>。以上は嫌気性の反応である。しかし土壌の微生物(Soil Microorganisms)の中には、HTをHTOに酸化する力があり、また好気性の条件では、トリチウム含有メタンがメタン酸化細菌によって酸化されることがある。後者の場合トリチウムは地球上においてリサイクルされている<sup>5)</sup>。

#### (4) 地下水の化学的性質の変化

長半減期の元素類の移動と微生物の関係についてはまだデータは多くはないが、ウランについては微生物の活動との関係が比較的よく研究されている。例えば、石炭紀(Carboniferous)と白亜紀(Cretaceous)の2つのウラン鉱床は微生物による反応に起因しているといわれており、独立栄養菌と従属栄養菌の両者が酸化剤、還元剤を生成して、ウランの溶解と蓄積に影響しているとの見解がある<sup>4)</sup>。このように微生物は地下環境下での代謝活動によって、地下水のpH、Eh、を変化させたり、物質の吸着プロセスに影響を与えることが知られている<sup>4) 6)</sup>。

このウランの移行に関与する微生物の活動は、地下環境の変化、核種移行に影響する現象として重要である。これは、イオウ酸化細菌による硫酸の好気性生成の結果、ウランの溶解度が増大するというものである。6価のウランが生成して可溶性の硫酸ウラニルが酸のなかに生成するといわれている。また粘土の中や地表に近い土壌の中で、微生物によってできる有機酸(例えば、フミン酸、フルボ酸)と錯体を形成し、移動度を増すことも考

えられる。ウランの生化学現象はサイクルを形成している（図 1.4.3-2）<sup>7)</sup>。

一方アクチニド元素の漏洩と微生物の関係が報告されている。これは、米国のLLW 処分場からの浸出液中でアクチニド元素が見つかっているもので、プルトニウムが例外的に低い溶解度で存在して、それが有機物との錯体であったという例である。このようなプルトニウムの移動はEDTAやTBP などの人工的な有機キレート化合物の存在によって説明しようとしている。自然界の有機物と核種が微生物の存在によって錯体を形成することは、アクチニド元素だけでなく、テクネチウムについても報告されており、関与する元素の溶解度や移動度を増加する作用として重要である。<sup>5)</sup>

化学的性質への影響の例としてpHの変化がある。自然界に存在する粘土の多くは、高濃度の硫黄化合物（硫化物、チオ硫酸塩など）を含んでいて、これらがイオウ酸化細菌の影響を受けて硫酸を生成する。閉鎖された直後の処分場の地下水はほぼ中性であり、コンクリートに接したときにはpHは大きくなる。一方、埋め戻し材の中に前記のイオウの化合物が存在すると、他の制限がなにもなければ、イオウ酸化細菌の影響を受けて硫酸の生成が始まる。この現象は埋め戻し材中のアルカリの増大に対抗するもので、埋め戻し材中のpHが低い値に維持される原因となる。その結果、多くの核種の移動度が増大するといわれている。ただ埋め戻し材中に含まれる物質の化学組成と微生物の数についてはまだ情報が少なく、さらに研究を進める必要がある<sup>7)</sup>。

### （5）核種の取り込み

微生物による重金属の生体内濃縮の例が多く見られることから、放射性核種の取り込みは十分考えられることである。この取り込みの可能性については既に何人かの研究者によって報告されており、それによると微生物の細胞の外側での取り込みと内側でのものとの2つがあるという。処分場に関する微生物のこうした作用については今後研究されるべきであるとしながらも、核種の取り込みに関してその可能性を整理している（図 1.4.3-3）<sup>10)</sup>。細胞外での物質生成では、キレート化合物－アミノ酸、有機酸系の糖類、ペプチドおよび多糖類－の生成が考えられており、処分場の安全性評価に關係があるかどうかの見極めをつける必要がある、とコメントされている<sup>10)</sup>。以下にこの現象のメカニズムと例を整理する。

まず表 1.4.3-7に微生物による金属元素の抽出／濃縮／回収の例を示す<sup>6)</sup>。これを見ると、一口に核種の取り込みといっても、酸化、還元、細胞表面でのイオン交換やキレー

ト生成、沈殿生成、あるいは化学的な放出、細胞内トラップ、生物的なメチル化など非常に多彩なメカニズムであることが分かる。一例としてウラン鉱床の生成過程—ウランの蓄積—は細胞質の活動というよりも、イオンが細胞の表面に吸着して蓄積していくといった物理—化学的な因子によって支配されていると報告されている<sup>6)</sup>。

前述したように微生物と核種の移行の関係は主として、細胞内への取り込み、細胞外への吸着および代謝活動によるキレート化合物の生成の3つに分けられるようである。なぜそれが核種移行に影響するかというと、これらの作用によって対象となる金属元素（放射性核種）の、人工バリア材、岩体に対する吸着特性が変化するからである。<sup>5) 6) 10)</sup>

マクロ的に考えると、バリア材の表面に微生物がいくつか集まってコロニーを形成し、これがその表面や地下水中で活動的、成長的な働きを持つバイオフィルムを形成することになる。ミクロ的に見ると微生物の一つ一つの細胞は細胞質の回りに細胞壁(Cell-wall)があって、細胞の形を保っている。核種の細胞内への取り込みや表面への吸着—細胞内外への分子の移動—にはこの細胞壁が関与している。原始的な微生物が持つこの細胞壁は、ヘテロポリマー、半結晶、たんぱく質、あるいはヘテロ糖類など様々な物質からできている。そしてこの微生物の細胞壁(Bacterial Wall)はそれがグラム陰性か陽性の場合は陰イオン的に独立しているという。従って細胞壁の外側の金属イオンとは相互作用を起こしやすく、Na, K, Mg, Fe(3価), Ni, Cu, Au(3価)がどのように細胞壁にくっつくかを研究した例がある。それによると、細胞壁を介した核種と細胞の相互作用には2つのステップのメカニズムがあるという。第一は、金属イオンと細胞壁の活性な所の間での化学量論的な相互作用である。そして次には、この相互作用が溶液側（細胞壁の外側の金属イオンが存在している側）からの金属蓄積の核形成の場として作用するようになるという。多くの金属を取り込んだ細胞壁は水や水和したプロトンなどでは容易には置き換えられない。こうしたことから、仮に処分場の周囲の岩体中にバイオフィルムが存在すると、それらと放射性核種の相互作用はまず間違いなく起こるという。アクチニド元素と中性の水環境について、こうした相互作用が重要であることを示した報告もある<sup>10)</sup>。

キレート化合物は、成長のために鉄あるいは他の主要な金属類を必要とする微生物によって生成され、金属の溶解性を強め、移動度を増加させるといわれている。比較的良く知られているのは、鉄をキレート化して細胞のなかへ輸送する錯体化合物(siderophores)に関する化学、生化学、微生物の種類そしてその生成速度である。4価のプルトニウムと3価の鉄、あるいは4価のトリウムと4価のプルトニウムは化学、生化学的に類似性が観察

されていて、鉄隔離剤がプルトニウムやその他の金属の錯体形成に重要な役割を果たす。PuO<sub>2</sub>の溶解は、微生物によって作られるキレート(Polyhydroxamate) - Desferol - の存在下で強められることが知られており、したがって、廃棄物中のプルトニウムや他の金属が微生物に基づくキレート剤によって錯体を作る可能性があることがわかる。プルトニウムに関連する錯体の存在下で微生物の成長を認めた観察があり、プルトニウムの細胞内への輸送に関して多くの微生物カルチャーが試験され、錯体の作用について推論が成されているが、まだ確認されてはいない。また核種移行に関するキレート化合物の生成については好気性の微生物について多く研究されているようであるが、核種移行に関して重要な役目を果たすと考えられる嫌気性微生物の錯体生成についてはほとんど情報がない。環境における有害金属の移行に関する微生物のキレート化合物の生成についてはまだ十分知られていないのが現状であり、今後の研究に期待するところが大きい<sup>5)</sup>。

なお以上のような相互作用は水の化学的性質(pH, Eh)、栄養素、酸素、二酸化炭素、温度、鉱石の粒子の大きさと表面積、など多くの因子の影響を受け、また金属元素の酸化状態も核種の取り込みにかなり影響する<sup>6)</sup>。

#### (6) 有害金属の移行と固定

以上見てきた様々な微生物の活動について、核種移行の点から微生物が関与するプロセスを、嫌気性、好気性の両条件下で整理すると、図 1.4.3-4 のようになる<sup>5)</sup>。

またウランについて地中のpHと微生物に依存する化学的、微生物的な浸出プロセスを図 1.4.3-5 に示す。

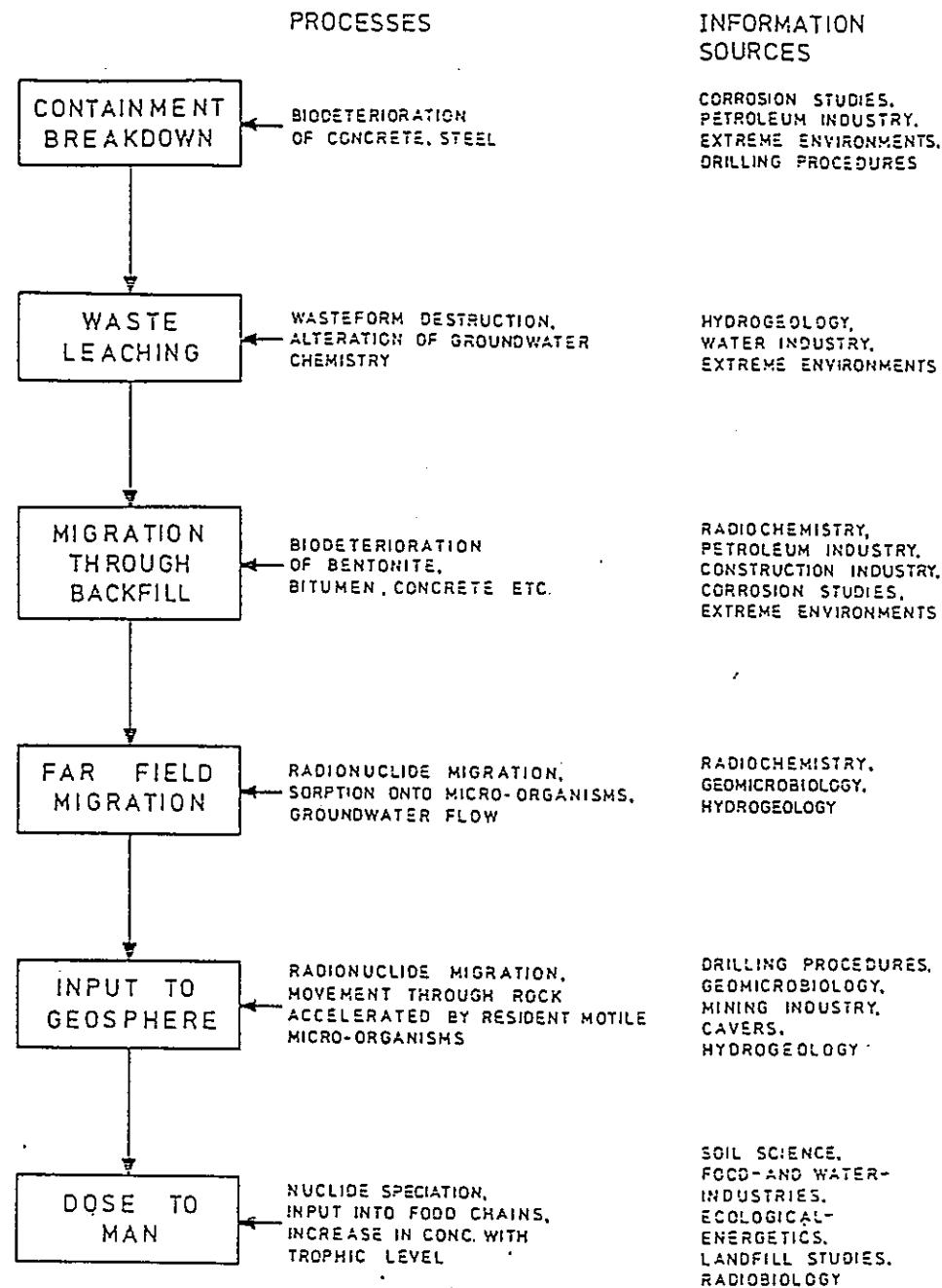


FIG. 1. Microbial influence on containment breakdown and radionuclide migration

図 1.4.3-1 閉じ込め機能の破壊と核種移行への微生物の影響<sup>1)</sup>

Figure 2

A Diagram of the Biogeochemical Uranium Cycle.

(after Zajic, 1969)

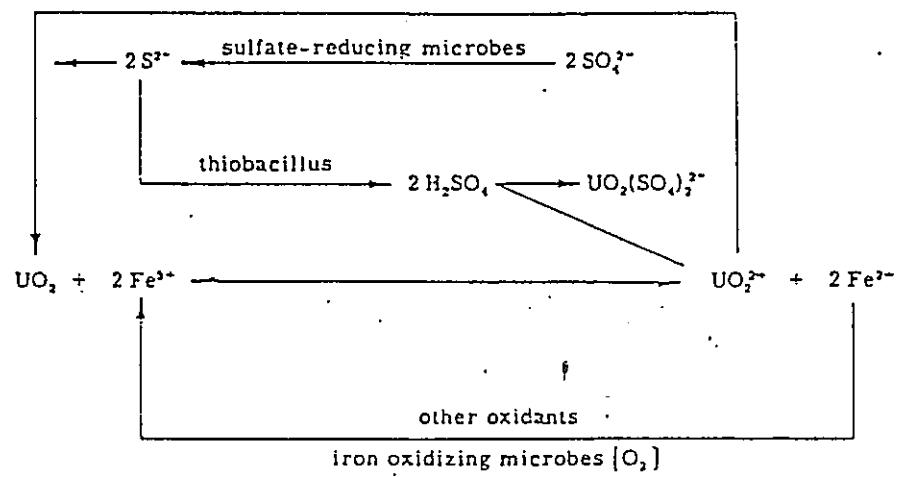
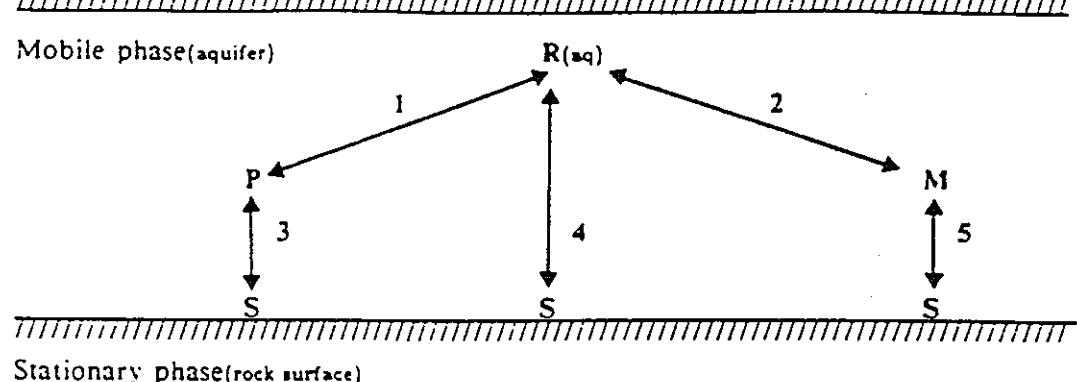


図 1.4.3-2 生物化学的なウランサイクル<sup>7)</sup>

Figure 1-1 Distribution of a radionuclide between mobile and immobile phases (from Allard, 1989).



R Radionuclide in solution, organic or inorganic related to the hydrochemical conditions.

P Solid mobile phase, precipitate or coprecipitate that can be formed or dissolved when the chemical conditions are changed, possibly by microorganisms, in nearly saturated systems. E.g.  $\text{Fe(OH)}_3\text{-aq}$ ,  $\text{Al(OH)}_3\text{-aq}$ ,  $\text{CaCO}_3$ , macromolecular organics that can be effected by microorganisms.

M Solid mobile phase, natural colloids. E.g. Microorganisms, clay minerals, silica.

S Solid stationary phase, Rock surface with or without microbial biofilms.

1 Precipitation, coprecipitation - dissolution

2.5 Sorption, uptake - desorption, related to chemical speciation

3.4 Attachment, filtration, mineralisation, sedimentation - detachment, sloughing, resuspension, weathering.

図 1.4.3-3 放射性核種の取り込み、交換の概念<sup>10)</sup>

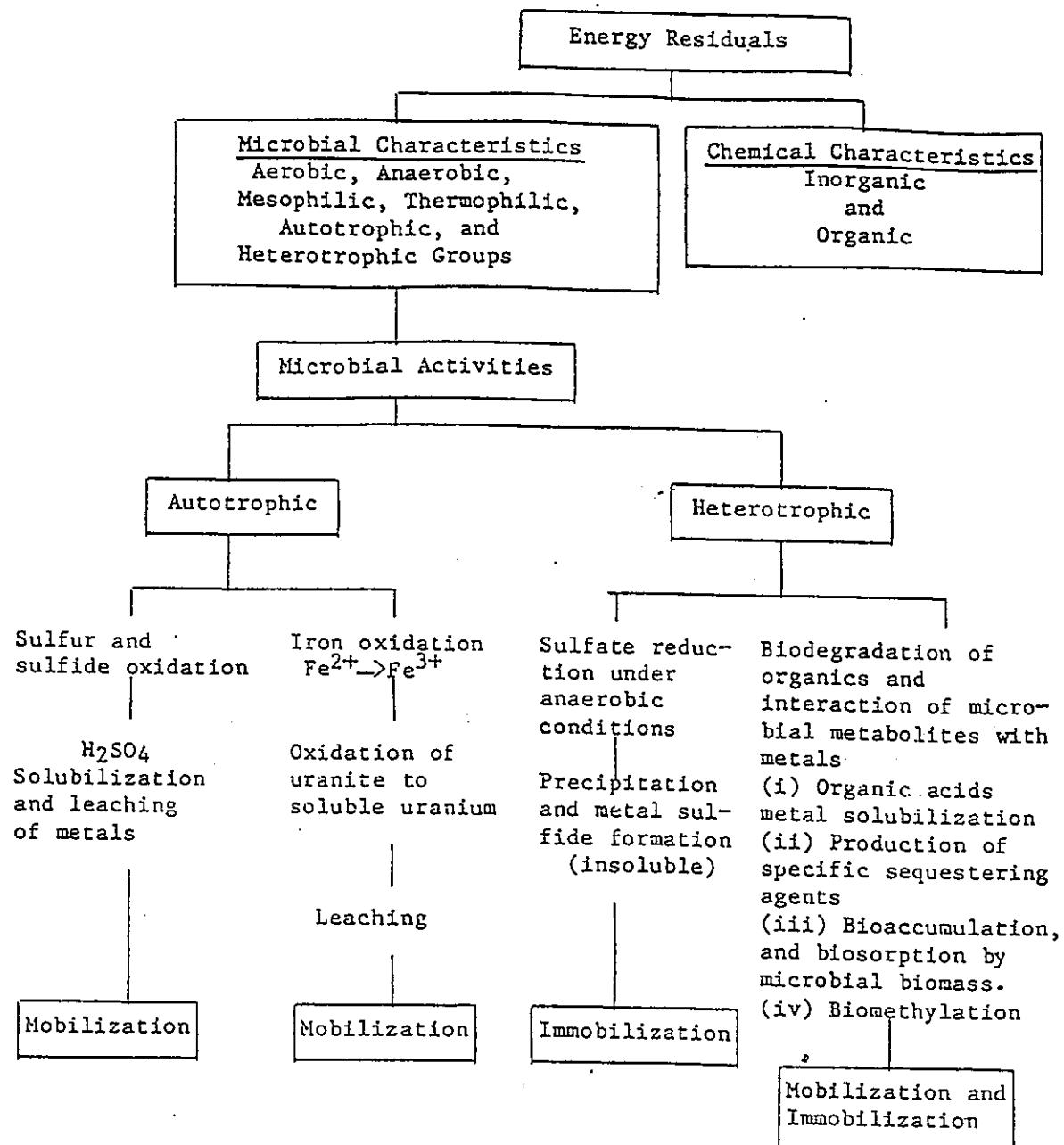


FIGURE 1 Microbial transformation of toxic metals.

図 1.4.3-4 微生物による有害金属の変質<sup>5)</sup>

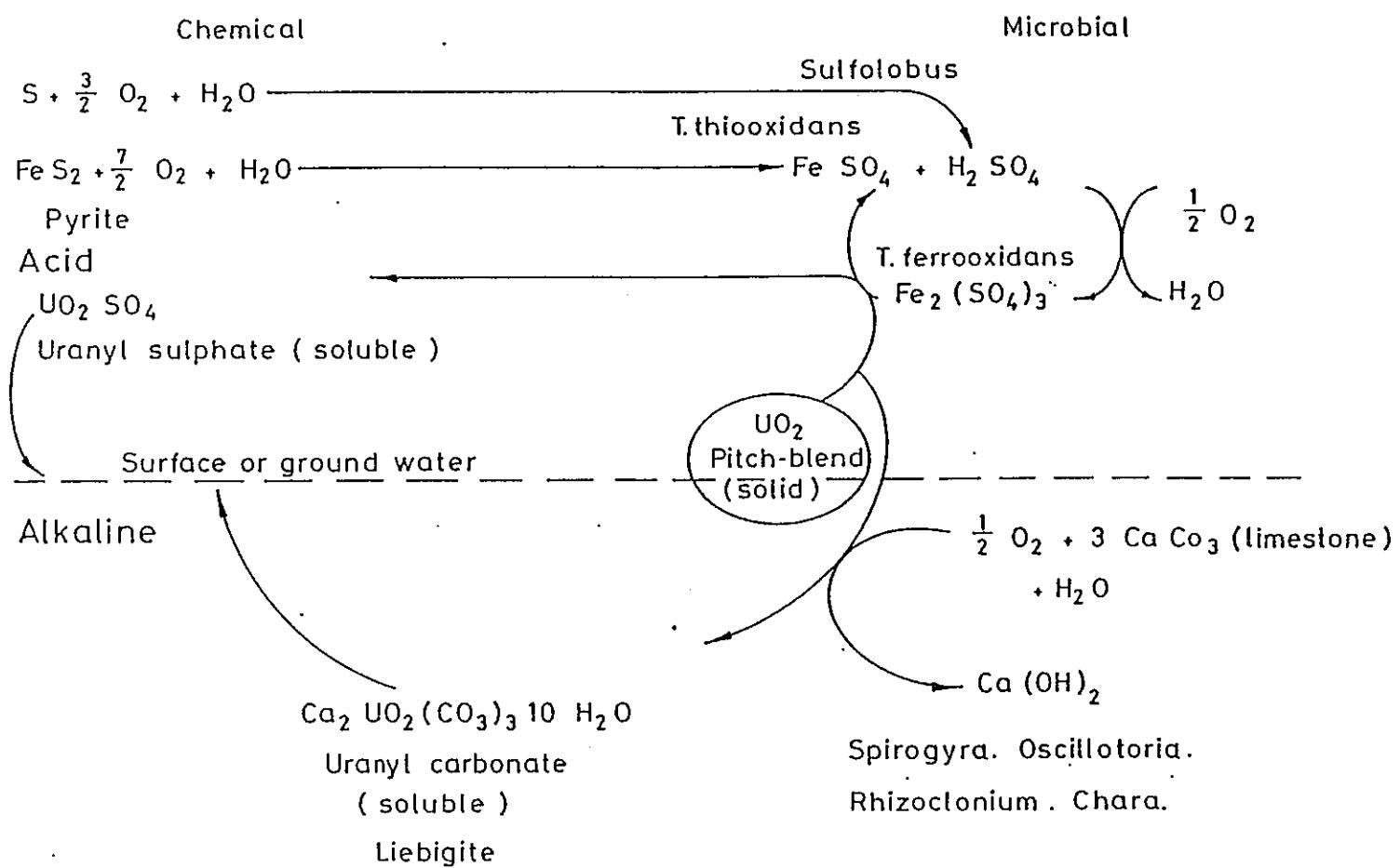


FIG.1. Uranium Leaching Involves Both Chemical and Microbial Processeses that Largely Depend on Soil pH, and Microbes Present. (After Monroe 1985)

図 1.4.3-5 ウランの化学的、微生物的な浸出プロセス<sup>6)</sup>

表 1.4.3-1 ラ・アーグ処分サイト土壤の微生物に関する分析結果<sup>7)</sup>Table 2

Results of the microbiological analysis  
of soil from the La Hague disposal site  
(after Sambell, 1983)

	La Hague soil	La Hague soil + peat
ATP, μmoles/g of dry matter	$1.8 \times 10^{-5}$	$2.4 \times 10^{-5}$
Total organisms	$3.1 \times 10^7$	$5.7 \times 10^6$
<u>Number of organisms/g of dry matter</u>		
Azotobacters	$4.7 \times 10^3$	$3.2 \times 10^2$
Clostridia	$0.9 \times 10^2$	$3.2 \times 10^3$
Nitrosating bacteria	93	191
Nitrifying bacteria	41	$3.2 \times 10^3$
Ammonizing bacteria	$4.6 \times 10^5$	$5.7 \times 10^5$
Nitrate-reducing bacteria	$4.7 \times 10^2$	$3.2 \times 10^4$
Aerobic cellulolytic bacteria	-	-
Anaerobic cellulolytic bacteria	$1.2 \times 10^3$	$2.6 \times 10^5$
Fungi	$1.0 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$
Actinomycetes	$7.2 \times 10^5$	$6.3 \times 10^6$
Algae	-	-
Iron bacteria	-	-

A dash (-) signifies the bacterial type was not identified.

表 1.4.3-2 ビチューメンを含む好気性および嫌気性土壤の微生物分析結果<sup>7)</sup>Table 3

Microbiological analysis of aerobic and anaerobic soils containing bitumen  
 (Units: Organisms g<sup>-1</sup> of dry matter)

Organism	Initial soil analysis	Aerobic conditions			Anaerobic conditions		
		Sample 28	Sample 29	Sample 30	Sample 28	Sample 29	Sample 30
N <sub>2</sub> -fixing bacteria	3.2 x 10 <sup>2</sup>	1.6 x 10 <sup>5</sup>	1.0 x 10 <sup>6</sup>	6.5 x 10 <sup>3</sup>	8.0 x 10 <sup>3</sup>	9.0 x 10 <sup>4</sup>	3.0 x 10 <sup>4</sup>
Ammonifying bacteria	5.7 x 10 <sup>5</sup>	8.0 x 10 <sup>5</sup>	1.0 x 10 <sup>8</sup>	3.0 x 10 <sup>6</sup>	3.0 x 10 <sup>5</sup>	4.0 x 10 <sup>8</sup>	3.5 x 10 <sup>7</sup>

Produced from Vejmelka and Sambell, 1984

表 1.4.3-3 微生物の成長を助けるポリウレタンとエポキシ樹脂の性質<sup>7)</sup>

Table 5

The ability of polyurethanes and epoxy resins to support microbial growth  
 (after Pankhurst et al, 1972)

Substrate	Simulation or inhibition of growth of test organism													
	<i>P. resinovorans</i> <sup>a</sup>		<i>P. aeruginosa</i> <sup>a</sup>		<i>S. marcescens</i> <sup>b</sup>		Yeast 1		Yeast 2		Actinomycete 1	<i>S. rubrireticuli</i> <sup>c</sup>	<i>A. niger</i> <sup>d</sup>	<i>A. fumigatus</i> <sup>d</sup>
Resins or resin mixtures epoxy resin/coal tar blending resin (no other information) polyurethane constituent of a tape epoxide	++	0	0	0	0	—	—	—	—	—	0	++	+(s)	
Encapsulants polyurethane, rigid foam (polyether type) polyurethane, semi-rigid epoxy resin/coal tar epoxy resin/hardener	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Coatings epoxy resin/coal tar, amine-cured	0	0	—	0	0	—	—	—	—	—	0	+	0	
	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0	

KEY    0 = no growth or inhibition  
 — = a little inhibition  
 --- = some inhibition

--- = pronounced inhibition    +++ = pronounced growth  
 + = a little growth    (s) = spore formation  
 ++ = some growth

- (a) *Pseudomonas* sp.
- (b) *Serratia* sp.
- (c) *Streptomyces* sp.
- (d) *Aspergillus* sp.

表 1.4.3-4 地球化学における重要な核種<sup>7)</sup>Table 6

List of important radionuclides for geochemical study  
 (modified after Bird, 1979)

This list is not comprehensive and not all isotopes are listed. Selection was based on a nuclide having a half-life of tens of years and being present in significant quantity in the irradiated fuel.

Isotope	Half-Life (Years)	Probable Form in Groundwater
<sup>79</sup> Se	$\leq 6.5 \times 10^4$	$\text{SeO}_3^{2-}$ , $\text{SeO}_4^{2-}$
<sup>99</sup> Tc	$2.1 \times 10^5$	variable
<sup>129</sup> I	$1.6 \times 10^7$	$\text{I}^-$ , $\text{IO}_3^-$
<sup>90</sup> Sr	29	$\text{Sr}^{2+}$
<sup>137</sup> Cs	30.2	$\text{Cs}^+$
<sup>107</sup> Pd	$7 \times 10^6$	$\text{Pd}^{2+}$ , hydrolysed complexes likely
<sup>238</sup> U	$4.5 \times 10^9$	variable, most soluble as $\text{UO}_2^{2+}$ or U(VI) fluoride, phosphate or carbonate complexes: research in progress
<sup>237</sup> Np	$2.1 \times 10^6$	variable, most mobile as $\text{NpO}_2^{2+}$ or Np(VI) complexes: research in progress
<sup>238</sup> Pu	87.7	variable, several oxidation states can co-exist: many hydrolysis complexes possible: forms polymers in all oxidation states: research in progress
<sup>241</sup> Am	432	variable: research in progress
<sup>244</sup> Cm	18.1	variable: research required

表 1.4.3-5 緩衝材と埋め戻し材中の微生物数<sup>7)</sup>

Table 7

Numbers of contaminating micro-organisms in backfill/ buffer materials  
 (after Mayfield and Barker, 1982b)

Culture Medium	Backfill material						
	Pembina mountain clay	Avonlea oilwell bentonite	Inco tailings	Domtar Seal Bond	Sodium bentonite	Manitoba clay	Dresser Minerals bentonite
PDA	4 100	4 600	112	660	5 000	288 000	1 100
TSA	24 000	64 200	1 100	86 300	9 600	1 100 000	1 100
SEA	19 000	110 000	1 500	150 000	20 300	3 050 000	1 400
NF	920	12 000	-	3 600	2 800	120 000	200
PYE	12 300	14 000	1 000	100*	100*	110 000	110*
MS	8 000	92 000	1 100	3 200	5 600	480 000	1 200
TGE	16 300	32 300	2 200	21 000	9 400	480 000	2 200
NA	14 400	101 000	1 100	26 000	8 200	1 106 000	6 300

Media; PDA - Potato dextrose; TSA - Trypticase Soy; SEA - Soil Extract; NF - Nitrogen free;  
 PYE - Peptone yeast extract; MS - Mineral salts; TGE - Tryptone glucose; NA - Nutrient agar.

A dash (-) represents no micro-organisms were identified

An asterisk (\*) represents low counts, indicates "sporadic" occurrence of bacteria

表 1.4.3-6 放射性廃棄物浸出液サンプルからの $^{14}\text{CH}_4$  と  $\text{CH}_3\text{T}$  の微生物による生成<sup>5)</sup>

TABLE II Microbial production of  $^{14}\text{CH}_4$  and  $\text{CH}_3\text{T}$  from radioactive waste leachate samples.<sup>23</sup>

	Methane Produced (nmol)	<u>Total Activity (pCi)</u>	
		$^{14}\text{CH}_4$	$\text{CH}_3\text{T}$
Control	980	0.5	0.03
Inoculated ( $\text{N}_2 + \text{CO}_2 + \text{H}_2$ )	18,000	0.59	1.0
Inoculated ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ )	68,000	12	57

表 1.4.3-7 微生物による金属元素の抽出／濃縮／回収のメカニズム(1/2) <sup>6)</sup>

TABLE 2

Microbial Mechanisms for Metal Extracting/Concentrating/Recovery

<u>Microbes</u>	<u>Metals Removed</u>	<u>Method</u>	<u>Reference</u>
<i>Thiobacillus</i> <i>Sulfolobus</i>	Iron (sulphur)	Oxidation	Mac Gregor (1966)
<i>Sphaerotilus</i> <i>Leptothrix</i> <i>Hyphomicrobium</i> <i>Gallionella</i>	Iron Manganese	Oxidation	Brierley (1982)
<i>Spirogyra</i> <i>Oscillatoria</i> <i>Rhizoclonium</i> <i>Chara</i>	Molybdenum Selenium Uranium Radium	Oxidation	Brierley (1982)
<i>Desulfovibrio</i> species	Mercury Lead	Reduction	Wood et al (1983) Brierley (1982)
<i>Scenedesmus</i> <i>Synechococcus</i> <i>Oscillatoria</i> <i>Chlamydomonas</i> <i>Euglena</i>	Nickel	Surface ion-exchange	Wood et al (1983)
<i>Saccharomyces</i> cerevisiae <i>Rhizopus arrhizus</i>	Uranium Cesium Radium	Surface ion-exchange	Brierley (1982) Strandberg et al (1981) Shumate II (1978)
<i>Penicillium digitatum</i>	Uranium	Surface ion-exchange	Keller (1983)
<i>Ustilago sphaerogena</i>	Iron	Surface chelation	Emery (1982)
<i>Aspergillus niger</i>	Aluminium	Surface chelation	Kiel et al (1980)
<i>Cyanidium</i> caldarium	Iron, Copper, Nickel, Aluminium, Chromium	Surface precipitation	Wood et al (1983)
<i>Staphylococcus</i> aureus <i>Escherichia Coli</i>	Cadmium, Zinc (arsenate) (arsenite) antimony	Chemiosmotic Efflux	Novik et al (1979)

表 1.4.3-7 微生物による金属元素の抽出／濃縮／回収のメカニズム(2/2) <sup>6)</sup>

TABLE 2 (cont'd)

<u>Microbes</u>	<u>Metals Removed</u>	<u>Method</u>	<u>Reference</u>
Anabaeria variabilis Pseudomonas aeruginosa	Potassium, Rubidium, Uranium, Cesium, Radium	Chemismotic efflux Intracellular trap	Strandberg et al (1981) Shumate II et al (1983)
Synechococcus	Nickel, Copper, Cadmium	Intracellular trap	Wood et al (1982)
Clostridium cochlearium	Mercury	Biomethylation	ibid
Pseudomonas species	Tin	Biomethylation	Hallas et al (1982)

## 1.5 今後の課題

### 1.5.1 微生物検討の手順について

ここで扱う手順には、次の二つの段階があると考える。

①処分場環境において、どういう微生物が存在し得るのか。

②存在する微生物のうち、現場での代謝活性にとって、どれが重要であるか。

(現場で活動するであろう微生物は何か)

①を知るために最も多く用いられている方法は、処分場環境モデルとなる場所から採取した試料の微生物数を計数することであろう。細菌のみに着目すれば、3. (2) で触れたように、

$$\text{全菌数} = \text{生きて活動している細菌} + \text{生きてはいるが活動していない細菌} + \text{死んだ細菌}$$

$$\text{生菌数} = \alpha \times (\text{生きて活動している細菌} + \text{生きてはいるが活動していない細菌})$$

( $\alpha$  = 用いた培地で増殖できる細菌の割合 = 1以下、本報告でのみ用いている)

であるので、存在し得る細菌数、即ち、(生きて活動している細菌 + 生きてはいるが活動していない細菌) は、生菌数より多く全菌数より少ない、ある幅を持った値として求められる。また培地や培養条件によって、異なるグループの細菌が計数されるので、生菌数は、細菌のグループごとに複数測っておくことが望ましい。

しかし、生菌数と全菌数とは通常  $10 \sim 10^2$  ほど異なること、上記  $\alpha$  の値が必ずしも明確でないこと（望むらくは  $\alpha = 1$  でありたいが、細菌によっては  $\alpha = 0$  となり得る）などから、細菌数の測定精度はあまり良くない。 $\alpha$  の値を高くするため、寒天培地の代わりに液体培地を用いた MPN 法（3. (2-2) チオバチルス類の項参照）がある。例えば、硫酸塩還元細菌の生菌数測定においては MPN 法の方が高い値が得られるという報告もある。好圧性細菌のための加圧培養装置が必要かもしれない。また化学物質添加実験で各グループの微生物の増殖を確認しておき、細菌数データと照合するのも効果的であろう。

②で述べた「現場で活動するであろう微生物」は「現場に存在しうる微生物」の一部であるが、その重要性は極めて大きい。微生物は、活動することによって核種移行に影響すると考えられるからである。その測定法は、処分場環境モデルとなる場所から採取した試料を現場に類似した条件に置いて微生物の活性（増殖、代謝速度など）を測ることになる。

上記の生菌数のテクニックは、休眠状態でただ存在しているだけの細菌（生きてはいるが活動していない細菌）も測られてしまうので、この目的には使えない。

そこで、化学物質添加実験またはトレーサーによる活性測定が適用されることになる。

しかし微生物のグループごとに、方法は異なると考えられ、方法の検討が必要である。

一方、処分場環境モデルとして何を考えるかという問題もある。一つは、有機物、酸素、温度、放射能などの条件が異なってはいるが、「処分場と同じ深さの天然の地下環境」であろう。ここから試料を採取して、上記の測定を行う。

もう一つは、処分場を模擬した実験室規模の装置を製作することである。最初のステップとして、金属や埋め戻し材を入れた容器を高温で保管したものをモデルとし、次いで圧力を高めた条件を加えたモデル、更に放射能条件を加えたモデルへと発展させていく。そういうモデルにおける微生物の挙動を調べることが考えられる。

### 1.5.2 検討対象とすべき微生物について

前述3. (3) で述べたように、こういう環境では、化学合成無機栄養生物、通性嫌気性生物および絶対嫌気性生物が存在する可能性が高い。特に材料の腐食を考えると、化学合成無機栄養生物のうちの鉄酸化細菌と硫黄酸化細菌、および絶対嫌気性生物のうちの硫酸塩還元細菌が重要であろう（表 I -1.2.1 および表 I -1.2.2 参照）。

### 1.5.3 微生物腐食について－地層処分との関係－

本書では微生物と地層処分の関係について文献調査の結果をまとめてきたが、その際に忘れてならないテーマとして微生物腐食の問題がある。今回はこの問題については詳しく調査をしていないが、金属材料の微生物による腐食の概要、研究の現状と今後の研究課題について以下に簡単にまとめておく。

#### (1) 微生物腐食とは

##### ① 概要

調査したいくつかの文献でも触れていたように、地中における鉄鋼材料の腐食が経験的に知られており、微生物による材料劣化の代表例として紹介されている。微生物腐食(MIC : Microbially Influenced Corrosion) とは、例えば硫酸塩還元菌( S R B : Sulphate-Reducing Bacteria) の生息活動が硫酸塩( $\text{SO}_4^{2-}$ ) を還元し、硫黄元素、チオ硫酸

( $S_2 O_3^{2-}$ )、硫化水素塩 ( $H S^-$ ) などを生成して腐食環境を変化させたり、金属表面でのバイオフィルムの形成が局所的な腐食を促進することである。

しかし正確にいうと微生物腐食は腐食の一つの型ではなく、生きている生物の活動の結果として直接的あるいは間接的に生じる腐食プロセスによる金属の劣化である。これらの生物にはバクテリア、藻類、甲殻類が含まれている。ミクロ的、マクロ的に見て微生物は pH が 0 から 11 の間、温度が 30 から 180 °F の間、そして圧力 15,000 lb/in² 程度で生存、繁殖が観察されている。こういうことから微生物の活動は土壌、天然水、海水、石油製品、油性潤滑剤などを含む様々な環境において腐食に影響する。

微生物は化学反応によって生命を維持している。つまり微生物は反応物質あるいは食物を摂取して排泄物を捨てている。こうした廃棄物が次のような方法で腐食に影響する。

- a. アノード、カソード反応への直接的な影響。
- b. 保護皮膜への影響。
- c. 腐食性環境の生成。
- d. 蓄積物の生成。

これらの効果が環境条件や関与する微生物に依存して、単独あるいは組み合せで発生する。

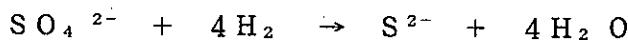
## ②腐食に関与する微生物

通常微生物は酸素の有無における成長の能力によって分類される。代謝プロセスにおいて酸素が必要なものを好気性細菌といい、溶存酸素を含む栄養媒体の中でのみ生息する。一方、嫌気性細菌と呼ばれているものは、酸素がほとんどあるいは全く無い環境で生息する。微生物による腐食の加速は非常に広範囲に及ぶが、それに関与する微生物種の同定と詳しいメカニズムに関する詳しい研究は少ない。

## ③嫌気性細菌

通常鉄鋼材料の腐食に影響する嫌気性細菌といえば硫酸塩還元型 (SRB) のものである。

これらの細菌は次の反応によって硫酸塩を硫化物に還元する。



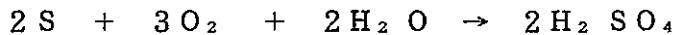
この反応式において水素源は腐食反応の間に放出されるか、あるいは土壤中に存在するセルロース、糖類、その他の有機物から誘導される。

S R B は湿った粘土、沼地の土(Boggy Soil)、湿地の中などの嫌気性条件下では最も一般的である。硫化イオンの存在は鉄の表面で生じるアノード、カソードの両反応にかなり影響する。硫化物は特に水素を放出するカソード反応を遅らせる傾向があり、またアノード分解を加速する。ほとんどの条件で、分解の加速は最も著しい効果で、これが腐食の原因となる。上記の反応からわかるように、S R B 存在下の腐食生成物は硫化鉄で、これは第一鉄イオンと硫化物イオンが接触した時に沈殿する。

S R B による硫酸塩の還元は、酸素の代りに硫酸塩を電子受容体として用いる呼吸活動である。いくつかのイオウの陰イオン、 $\text{SO}_3^{2-}$ 、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 、 $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ 、および $\text{S}_2\text{O}_6^{2-}$ が中間体として関与する。還元経路のすべての中間体は準安定で適当な条件で微生物酸化されやすい。これらの状態を図 1.5.3-1に示す<sup>23)</sup>。ここでは硫酸塩の微生物還元に対して電子供与体として働く有機炭素が示されている。

#### ④好気性細菌

好気性のイオウ酸化細菌(*Thobacillus Thiooxidans*)はイオウ元素やイオウ化合物を次式に従って硫酸に酸化する能力がある。



これらの微生物は低pHの環境で最も成長し、5wt%程度の濃度の硫酸を局部的に生成する。従ってイオウ酸化細菌は相当の腐食環境を作り出すことになる。こうした微生物は元素あるいは化合物形態のイオウが生存のために必要で、それゆえしばしばイオウ、油のあるフィールドや、イオウを含んだ有機廃棄物の下水配管の中でよく見られる。

S R B とイオウ酸化細菌は土壤の条件が変るとサイクルを作つて作用する。それゆえ、S R B は土壤が湿って、空気が排除されるような雨季の期間に急速に成長する。そしてイオウ酸化細菌は空気が土壤に浸透する乾季に急速に成長することになる。ある領域では、このサイクル効果が埋設钢管の激しい腐食の原因となる。

#### ⑤その他の微生物

腐食に直接間接に関わる様々な微生物がいるが詳しくは研究されていない。

#### ⑥微生物腐食の例

一般的によく知られている硫酸塩還元菌(S R B)による鉄の腐食を紹介する。

自然界あるいは産業界において水相にさらされる金属材料の表面は生物的、無生物的な変化を受ける。第一段階は無機イオンと高分子有機物の蓄積による金属表面上での皮膜の形成である。これによって金属表面の電荷状態と湿潤性（濡れ）が変化して微生物が付着しやすくなる。第二段階は微生物のコロニー形成で、これは微生物の細胞と細胞外の重合物質からなるバイオフィルムを形成する。このフィルムは水や物質の拡散に対するバリアになるが、同時に金属と溶液の境界で無生物的な作用—金属の溶解（腐食）と腐食生成物の形成が起こる。水系におけるバイオフィルムの内部は、好気性の系においてもそこは嫌気性になる。この状態になると S R B にとって好ましい環境となる。この状態を図 1.

5.3-2 に示す<sup>23)</sup>。このなかでは最初のコロニーが代謝生成物によってふたつめのコロニーを作っていく。最終的には、表面に生成するバイオフィルムの中で、このプロセスによって金属表面の隣り合う領域で物理化学的に異なった部分を生み出すことになる。この状態を図 1.5.3-3 に示す<sup>23)</sup>。S R B は単独では見つからないが、船体の付着物の場合では、物理的および代謝的な接触を他の微生物あるいは他の生物としている。物理的な条件と栄養素に依存してバイオフィルムは多くの好気性、通性および偏性嫌気性の微生物を含んでいる。この状態を図 1.5.3-4 に示す<sup>23)</sup>。鉄の嫌気性腐食における微生物の強化された効果については、3週間以内の軟鋼の腐食について *Vibrio anquillarum* と共に存する S R B がコロニーを作った鋼では全く異なることが報告されている。この違いは *Vibrio anquillarum* が純粋培養では腐食性を持たないにもかかわらず見られている。またこうした効果は、両方の微生物の腐食に対する活動を評価するために、電気化学的分極法で定量的に分析されている。実験結果は SEM によって観察されており（図 1.5.3-5, 図 1.5.3-6<sup>23)</sup>）、それらは海洋性の *Vibrio* が塩分濃度を海水と同じにした媒体のなかで軟鋼を自身で腐食することを示している。しかし孔食は S R B の存在によって強められ、さらに *Vibrio* が S R B と共に存するとさらにその傾向が強められる。微生物のコロニーは、*Vibrio alginalyticus* を軟鋼のサンプルに接種してインキュベートした後24時間で検出された。このコロニーを除去した後の金属面は、全面腐食と微小な孔食（Micropitting）が部分的に存在するのが見られた。このような研究によると、バイオフィルムとコロニー形成の顕著な効果というものが金属表面の腐食に対して予想される。S R B と *Vibrio* の共存の特殊なケースとして、腐食活動は、媒体中（塩化物）に存在するか、あるいは例えば S R B のような他の微生物によって代謝的に生成されるかする過敏な陰イオンの活動を促進する微生物種（*Vibrio*）の内のひとつによって金属表面の再不働態化に関係する。これらの結果は水環境における金

属の腐食挙動に関して、バイオフィルムの相互作用、マイクロコロニー形成、そして微生物的な協調の重要性を現している。さらに、異なる金属表面上の無機不働態層とバイオフィルムの相互作用は生物的劣化の効果を、軟鋼や銅ニッケル合金、ステンレス鋼について見られたように著しく強める。またすべてにわたってバイオフィルムと腐食生成物の相互作用の条件は、好気性と嫌気性の環境において多くの金属と合金の不働態化挙動を整える。

## (2) 研究の現状

微生物腐食の研究の現状を見てみると、アメリカの腐食防食学会の年会( 例えは Corrosion '91 など) では、原子力分野のセッションが連日行われており、関心の高いことが伺われる。最近では微生物腐食の専門学会、International Congress on Microbially Influenced Corrosion, October 7-12, Knoxville, Tennessee, USA が開催されているので、この学会の発表を参考にして微生物腐食の研究動向を見てみる。

全般的によく研究されているのは、炭素鋼／S R B ( 硫酸塩還元菌 : Sulphate-Reducing Bacteria ) の組み合わせの系で、事例解析、再現試験、メカニズム、モニタリングなどの点で研究例が多い。しかし腐食速度の定量的な予測など、詳細なメカニズムについてはなお未解決な所が多く残されているようである。研究対象の微生物は S R B が多く、それ以外の微生物の影響についてはほとんど研究されていない。またステンレス鋼、Ni基合金、Ti合金、Cu合金など炭素鋼以外の材料についての研究はまだ初期段階にあるようである。

研究の進め方の傾向としては、腐食科学／電気化学関係の研究者と微生物学をバックグラウンドとする研究者がそれぞれ研究を行っているが、両者の議論が必ずしも噛み合わない事もある。しかし腐食科学者／電気化学者の指導を受けて微生物学者が行っている研究に良いものが多いようである。

## (3) 今後の研究課題

現在実施されている微生物腐食の研究から重要と考えられるものは、微生物の同定と培養に関する技術、バイオフィルム形成の観察技術、腐食試験の方法とその評価手法などである。ただし地層処分の環境を念頭に置いた場合にはそれにあった研究の方向づけが必要である。例えば、S R B を対象とした炭素鋼／地下水系の腐食挙動の定量的な評価を行うには、

- ①ベントナイト中の硫酸塩 ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) 、S R B などの物質移行挙動のモ

ル化（還元されるべき硫酸塩とS R Bがベントナイト中を移動してオーバーパック近傍で作用することが必要。いづれが腐食反応に対して律速になるかを確認する）

②ベントナイト中のS R Bなどの微生物の生存、繁殖挙動の確認（ベントナイトによる高pHの化学環境で微生物が生存するか、あるいは繁殖を続けていくかといった問題は最終的にはオーバーパック材料がいつまで健全かという問題に関係する）。

③S R Bの活動によるベントナイト中のpH変化とその変化がベントナイトと微生物に与える影響の検討（S R Bの活動によって系のH<sup>+</sup>が増加するが、これともともと高pHの化学環境であるベントナイトがどのような相互作用をし、これによって微生物の存在や繁殖がどの様な影響を受けるかといったこと）。

といったようなことを確認する必要がある。これを見ると、処分場の地下環境が人工的に構築されることから、解明すべき事象が非常に複雑に関係し合っていることがわかる。これが自然環境下での微生物の腐食作用を検討する場合とは大きくちがう点である。従って、処分環境に特有な環境因子（例、ベントナイトの存在）、物理化学的因素（例、塩類の移行）や生物的因子（例、微生物の移動、繁殖、死滅など）を考慮した環境モデルを作成して問題点を整理することがまず必要であろう。そして、微生物の金属表面への付着、コロニーの生成、局在化プロセスのモデル化を行って、腐食速度の予測モデルを作ることが必要になる。さらに、例えばS R Bを対象とした炭素鋼／地下水系の腐食挙動の定量化を目指すために、腐食量の予測技術を確立していく必要が出てくると考えられる。なお腐食に関与する微生物はS R Bだけではないことにも注意すべきである。

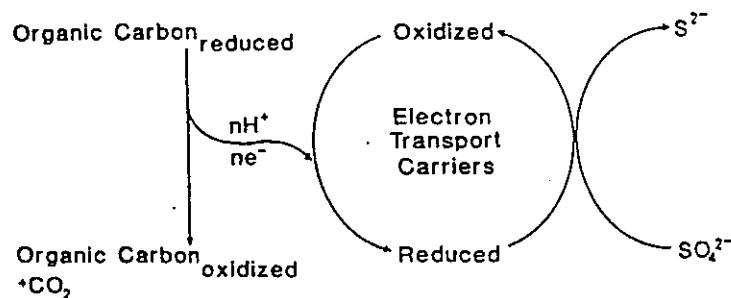


FIGURE 2 - Organic carbon as an electron donor for the microbiological reduction of sulphate (Cragnolino and Tuovinen, 1984). With permission of the CAB International.

図 1.5.3-1 硫酸塩の微生物還元における電子供与体としての有機炭素

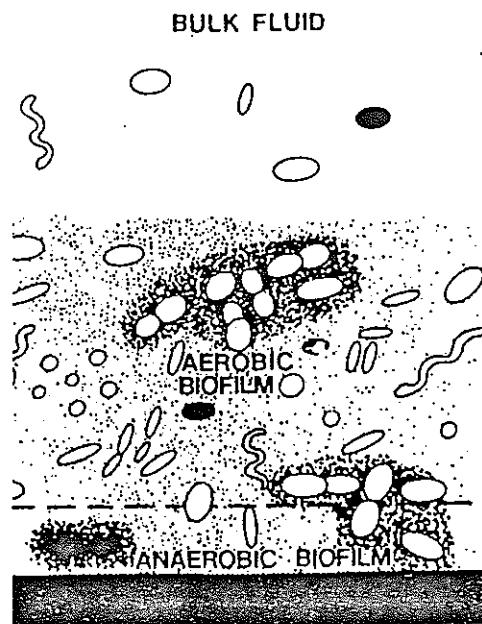


FIGURE 13 - Diagrammatic representation of active, corrosion-causing bacterial consortia development on a metal surface. A thick biofilm develops where individual bacteria species grow rapidly to develop microcolonies. When the biofilm attains sufficient thickness to exclude oxygen, an anaerobic zone is created adjacent to the colonized metal surface (Costerton et al., 1988). With permission of the National Association of Corrosion Engineers.

図 1.5.3-2 好気性と嫌気性のバイオフィルムの形成

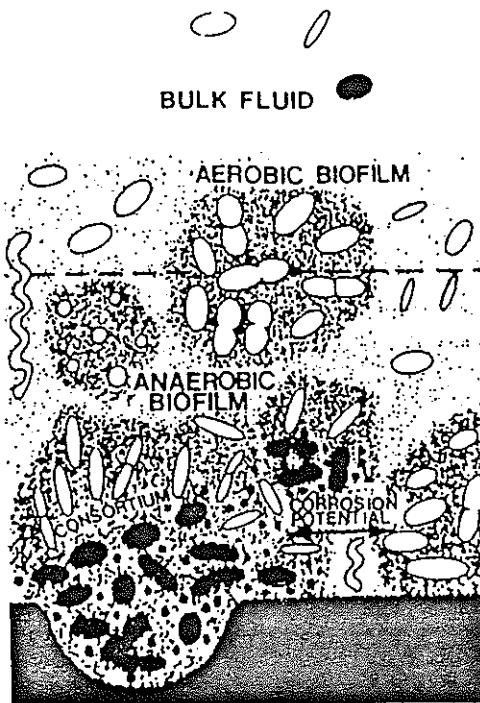


FIGURE 14 - Diagrammatic representation of the actual corrosion potential established between specific areas on the metal surface. As the corrosion pit deepens, the corrosion-causing organisms come to occupy it (Costerton et al., 1988). With permission of the National Association of Corrosion Engineers.

図 1.5.3-3 金属表面における腐食ポテンシャルの形成

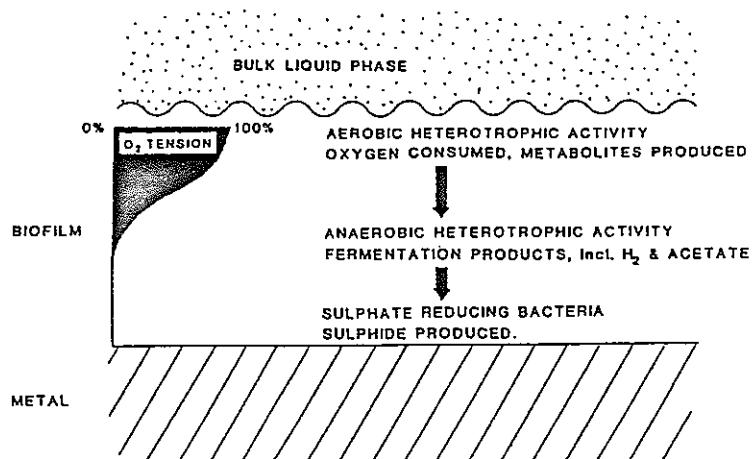


FIGURE 15 - Model for microbial biofilm (Hamilton and Maxwell, 1986).

図 1.5.3-4 バイオフィルムモデル

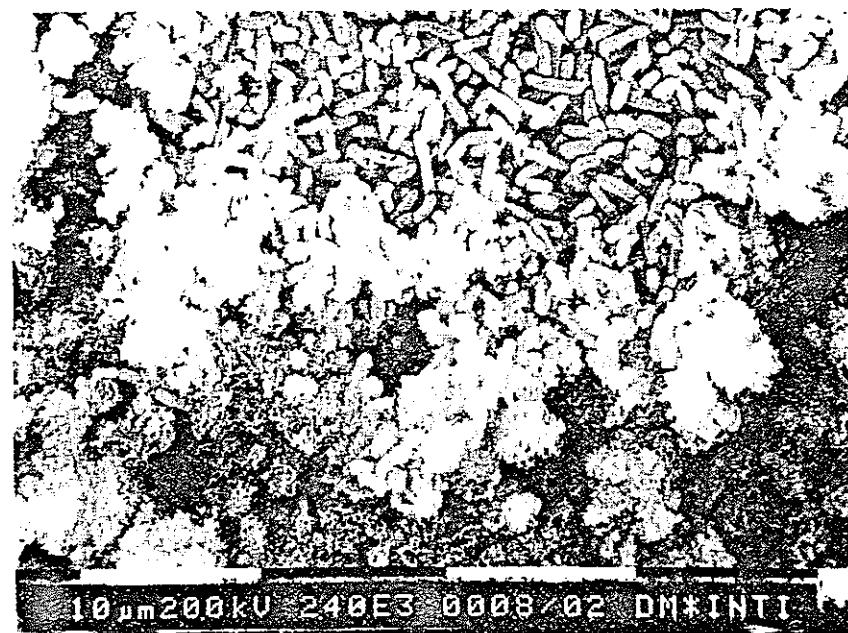


FIGURE 17 - SEM micrograph of a corrosion pit on a mild steel surface exposed for 48 hrs. to a *Vibrio alginolyticus* culture in simplified Postgate C medium. Bacterial cells can be seen inside a pit surrounded by abundant accumula of corrosion products. The bar indicates 10  $\mu$ m (Gaylarde and Videla, 1988).

図 1.5.3-5 軟鋼表面の孔食



FIGURE 18 - SEM micrograph of SRB colonies on a mild steel surface exposed for 72 hrs. to a mixed culture of *Vibrio alginolyticus* and SRB. Some crystalline lenticular blades of hematite and amorphous corrosion products can be seen surrounding the bacterial colofiles. The bar indicates 10  $\mu$ m.

図 1.5.3-6 軟鋼表面のSRB のコロニー

添付資料・調査文献リスト

- 1) 『The Geomicrobiology of Nuclear Waste Disposal』, J. M. West et al. Institute of Geological Sciences, Sci. Basis Nucl. Waste Mgt. 7, 1984
- 2) 『Preliminary Investigations of Deep Ground Water Microbiology in Swedish Granitic Rock』 K. Pedersen, SKB T/R 88-01, 1987
- 3) 『Deep Ground Water Microbiology in Swedish Granitic Rock and it's Relevance for Radio-Nuclide Migration from a Swedish High Level Nuclear Waste Repository』 K. Pedersen, SKB T/R 89-23, 1989
- 4) 『Microbial Mediation of Radionuclide Transport - Significance for the Nuclear Fuel Waste Management Program』 D. R. Champ, AECL, 1984
- 5) 『Anaerobic Microbial Transformations of Radioactive Wastes in Subsurface Environments』 A. J. Francis, Brookhaven National Lab., 1984
- 6) 『The Potential Significance of Microbial Activity in Radioactive Waste Disposal』 A. M. McCabe, Berkeley Nuclear Lab., 1987
- 7) 『A Survey of Possible Microbiological Effects within Shallow Land Disposal Sites Designed to Accept Intermediate-Level Radioactive Waste』 P. E. Rushbrook, AERE Harwell, 1985
- 8) 『An Approach to Microbiological Modelling: Application to the Near Field of a Swiss Low/Intermediate Level Waste Repository』 H. A. Grogan, I. G. McKinley, NAGRA T/R 89-06, 1989

- 9) 『An Analytical Overview of the Consequences of Microbial Activity in a Swiss HLW Repository』 I.G.McKinley, J.W.West, H.A.Grogan, NAGRA T/R 85-43 1985
- 10) 『Potential Effects of Bacteria on Radionuclide Transport from a Swedish High Level Nuclear Waste Repository』 K.Pedersen, SKB T/R 90-05, 1990
- 11) 『THE MICROBIAL WORLD』, R. Stanier et al. 『微生物学』, 高橋 甫ら訳, 培風館, 1978
- 12) 『土壤微生物入門』, 古坂 澄石, 共立全書, 1969
- 13) 『大地の微生物』, 服部 勉, 岩波書店, 1972
- 14) 『Principles of microbial ecology』, T.D.Brock, Prentice-Hall, Inc. 1966
- 15) 『海洋生化学』, 服部 明彦, 東京大学出版会, 1973
- 16) 『湖水中の好気性従属栄養細菌の分布』, 近田 俊文, 水温の研究, 25, p.19, 1982
- 17) 『FROM CELLS TO ATOMS』, A.R.Rees & M.J.E.Sternberg 『図説・分子生物学』, 野田 春彦訳, 培風館, 1986
- 18) 『重金属イオン存在下での細菌の生育』, 伊崎 和夫, 微生物の生態, 8, p.173, 1980
- 19) 『The Effects of Radiation on Chicago Metropolitan Sanitary District Municipal and Industrial Wastewaters』, C.J.Touhill et al., Journal WPCF, p.R44, 1969

- 20) 『Changes in the standing crop of sessile microbes caused by organic pollution of the Tamagawa River』, Y. Tezuka et al, 日本生態学会誌, 24, (1) p. 43, 1974
- 21) 『Bacterial flora in the water and sediment of Lake Motosu-ko, an oligotrophic lake in central Japan』, T. Konda & Y. Tezuka, 日本生態学会誌, 29, (3) p. 209, 1979
- 22) 『微生物の生態』10、微生物生態研究会編、学会出版センター、1982
- 23) 『Corrosion Reviews』, M. Schrr, Freund Publishing House Ltd., 1990

以上

## 第2章 学会、講演会調査

原子力、微生物、材料などの分野で微生物の研究が報告、討論される主要な学会、講演会、国際会議について、タイトル、開催地、開催期間などをまとめ、情報収集あるいは今後の研究報告などに役立てるものとする。

### 2.1 原子力関係

#### 2.1.1 海外

①Focus '91 : Nuclear Waste Packaging, September 29 - October 2, 1991,

Las Vegas, Nevada, USA.

: Waste Package Corrosion に関する微生物の影響をふくめてCall for Paper が出ている。隔年開催。

②High Level Radioactive Waste Management Conference, April 28 - May

2, 1991, Las Vegas, Nevada, USA

: 本年のプログラムによると、微生物関連の報告はない。しかし Radionuclide Release from the Engineered Barrier System、Geochemistryのセッションがあり（昨年の会議でも同様のものがあった）、報告する場合にはこれらのセッションが適当である。毎年開催。

③Third International Conference of Chemistry and Migration Behavior

of Actinides and Fission Products in the Geosphere, October 21-25,

1991, Jerez de la Frontera, Spain

: Call for Paperでは3分野の内の1つが Geochemical Interactions and Transport Phenomena. となっており、その中に Effects of Organics and Biological Activities. というのがある。隔年開催であるが、過去の会議では微生物関連の核種移行、吸着挙動などについて4件(1989)の報告がある。

④Joint International Waste Management Conference, October 21 - 26,

1991 Seoul, Korea

: Call for Paperには特に微生物に関する記述は無いが、第2回の Kyoto Conference(1989)では、低レベル廃棄物に関して、微生物によるガス生成 (Harwell) と微生物による減容処理技術開発(Finland) の報告があった。  
隔年開催。

⑤Scientific Basis for Nuclear Waste Management, November 4 - 7, 1991,

Strasbourg, France

: 今回の会議は、Waste Form(bitumen, Ceramics, SpentFuel, Cement など Near Field Environment(Canister, Backfill, Radionuclide Migration)そしてNatural Analogues に焦点を当てているSymposium A がある。これまでにもDr. McKinley(Nagra)等は微生物に関して報告を行っている(1983, 1985)。  
毎年開催。

以上が特に関連が深いと考えられるものであるが、この他に可能性のあるものとしては、

⑥Waste Management '92.

: この会議は毎年3月末から4月にかけて Tucson, Arizona, USA で開催されている。昨年の報告の中には有機コロイドの生成とそれによる放射性核種の輸送を取り上げたものがある(2件)。したがって本会議にも注意しておくべきと考える。

なお国内の原子力関係の学会、講演会はみつからなかった。

## 2.2 微生物関係

### 2.2.1 国内

地層処分に関する微生物の研究は国内ではほとんど行われていない。それに近い分野の学会を取えて挙げれば次のとおりであろう。

①日本微生物生態学会

事務局 : 〒183 東京都府中市幸町3 東京農工大学農学部内, TEL 0423-64-3311

活動 : 機関誌「日本微生物生態学会報」発行

学会開催: 年1回

海洋、陸水、土壤、人体、動物体内、植物体内、廃棄物処理場など様々な環境における微生物の生態を扱っているが、残念ながら地下環境の微生物の研究は見当たらない。研究手法は参考になる。

②日本陸水学会

事務局 : 〒192-03 東京都八王子市南大沢1-1 東京都立大学理学部化学教室内, TEL 0426-77-1111  
〒113 東京都文京区弥生2-4-16 (財) 日本学会事務センター  
TEL 03-3817-5801

活動 : 機関誌「陸水学雑誌」発行

学会開催: 年1回

地下水は、本来陸水であるので、地下水の微生物の研究があってもよいが、今のところ見当たらない。研究手法は参考になる。

③日本地下水学会

事務局 : つくば

活動 : 機関誌「地下水学会誌」発行

④日本生態学会

事務局 : 札幌

活動 : 機関誌「日本生態学会誌」発行

## 2.2.2 海外

海外でも地層処分に関連する微生物の研究は少ないが、散発的にいくつかの学会での発表が見られる。それらの関連学会を以下に記す。なお、ソ連での研究が盛んであるが、ほとんどロシア語での発表なので割愛した。

### ①AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY

事務局 : 1325 Massachusetts Avenue, NW • Washington, D. C. 20005

TEL 202-737-3600

FAX 202-737-0368

活動 : 機関誌「Applied and Environmental Microbiology」の発行

### ②SOCIETY FOR APPLIED BACTERIOLOGY

事務局 : London

活動 : 機関誌「Journal of Applied Bacteriology」の発行

### ③SWEDISH NATURAL SCIENCE RESEARCH COUNCIL.

事務局 : Ecological Research Committee, Stockholm, SWEDEN

活動 : 機関誌「Ecological Bulletins」の発行

### ④GEOLOGICAL SOCIETY OF AMERICA

事務局 :

活動 : 機関誌「Geology」の発行

## 2.3 微生物腐食関係

### 2.3.1 国内

#### ①腐食防食'xx（毎年春開催）および腐食防食討論会（毎年秋開催）。

いづれも社団法人・腐食防食協会の年会である。昨年の討論会では、海洋微生物による金属材料（アルミニウム、銅、チタン、ステンレス鋼）の腐食挙動が報告されている。

### 2.3.2 海外

①Corrosion 91, Cincinnati, March 11 - 15, 1991, Ohio, USA.

: アメリカの腐食防食学会の年会。毎年開催。今年の場合、実質4日半の発表のなかで微生物腐食に関するセッションは連日行われている。セッションの題目が、Corrosion of Materials in Nuclear Systems(1日), MIC Problem in Nuclear Industry (1日), Biological Corrosion (1.5日)といったことから分かるように、原子力分野への関心が高い。

②International Congress on Microbially Influenced Corrosion, October 7-12, 1990, Knoxville, Tennessee, USA.

: 微生物腐食の専門会議として注目できる。

③Workshop on Microbial Corrosion, March 3 - 6, 1991, Sesimbra, Portugal.

: 2nd European Federation of Corrosionの行事として実施するもの。自然環境および工業環境における微生物腐食に関する情報交換を目的としている。

以上その他に、注意したいのは、

④Corrosion Forum '91, April 23 - 24, Cambridge, England.

⑤Appalachian Underground Corrosion Short Course, Morgantown, West Virginia, USA. May 14 -16, 1991.

⑥Fifth International Symposium on Environmental Degradation of Materials in Nuclear Power System - Water Reactors, August 25 - 29, Monterey, California, USA.

などである。

### 第3章 研究機関の調査

#### 3.1 概要

我国においては、微生物の活動や影響に焦点を当てて放射性廃棄物地層処分の技術や安全評価を研究した例はこれまでにはない。しかし放射性廃棄物というテーマに限定せずに一般的な環境変化、材料劣化あるいは腐食といった問題に研究対象を広げてみると、それらを実施している研究機関は原子力に限定した場合よりもその数は多くなると考えられる。またこれらのテーマは、直接的には地層処分の特殊性－核種の挙動に関連するような－には結び付かないかもしれないが、現象のひとつひとつ、あるいは研究の手法や考察の仕方等の点において今後我々の研究の参考になることは十分に期待できる。そういう点からは、微生物に関する情報は広く集めることが今の段階では必要である。こうしたことから、微生物による環境変化、材料劣化あるいは腐食などについて研究、技術開発をしている国内外の代表的な研究機関を調査した。

調査は微生物、環境、腐食といった分野での研究機関の活動を、文献や国際会議の資料を元にして検討した。

#### 3.2 調査研究機関

今回まとめたものは、国内5機関、国外9ヶ国、17機関の計21機関である。以下にその名称を列記する。詳細は添付資料3.1、3.2、3.3に示す。なお海外研究機関において第4章で調査したものは本章では取り上げなかった。

##### 3.2.1 国内研究機関

- ①微生物工業技術研究機関
- ②公害資源研究所
- ③放射線医学総合研究所
- ④東京ガス株式会社
- ⑤島根大学農学部

##### 3.2.2 海外研究機関

###### (1) 微生物全般

- ①ベルギー
  - ・ペトロフィナ・グループ・リサーチ・センター

(LABOFINA)

②イギリス

a. イギリス水質センター

(WRC:Water Research Center)

b. 英国石油サンベリー研究センター

(BP Research International, Sunbury Research Center)

c. 英国・ワーレン・スプリング研究所

(Warren Spring Laboratory)

③フランス

a. ジョゼ・デルビィュ社セザンブル海洋腐食試験センター

(Cezembre Corrosion Testing Centre, Societe Jose Delville)

b. フランス海洋開発調査研究所

(IFREMER:French Research Institute for the Exploitation

of the Sea)

④オランダ

a. オランダ医学生物学研究所

(TNO:Medical Biological Laboratory)

b. オランダ・G B社ベイレリンク研究所

(Gist-Brocades Beijerinck Laboratory)

c. オランダ放射線生物学研究所

(TNO Radiobiological Institute)

⑤ドイツ

・カールスルーエ原子力センター

(Karlsruhe Nuclear Research Center)

⑥ハンガリー

a. ハンガリー酵素学・生物学研究センター

(Institute of Enzymology, biological Research Center, Hungarian

Academy of Science)

b. ハンガリー土壤・農芸化学研究所

(Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry)

of the Hungarian Academy of Science)

⑦カナダ

- ブリティッシュ・コロンビア州研究所  
(B. C. Research)

⑧イスラエル

- イスラエル石油・エネルギー研究所  
(Israel Institute of Petroleum and Energy)

⑨中国

a. 中国科学院微生物研究所

(Institute of Microbiology, Academia Sinica)

b. 中国科学院南京土壤研究所

(Institute of Soil Science, Academia Sinica)

c. 中国科学院金属腐蚀・防護研究所

(Institute of Corrosion and Protection of Metals,

Academia Sinica)

(2) 微生物腐食関連

全体として硫酸還元菌による炭素鋼の腐食が主流であるが、それらに関連する研究を実施している研究所、大学などを特にここではピックアップした。

①イギリス

- University of Manchester Institute of Science and Technology  
(UMIST), Corrosion and Protection Centre,

②クウェート

- Kuwait Institute for Scientific Research

③カナダ

- Department of Biological Sciences, University of Calgary

④アルゼンチン

- Bioelectrochemical Section, INIFTA university of La Plata

⑤イタリア

• CNR-ITM

⑥アメリカ

- a. Rensselaer Polytechnic Institute
- b. College of Marine Studies, University of Delaware
- c. Naval Oceanographic and Atmospheric Research Laboratory
- d. Institute for Applied Microbiology, University of Tennessee
- e. Center of Marine Biotechnology, University of Maryland
- f. Structural Integrity Associates
- g. Center for Interfacial Microbial Process Engineering Research
- h. Div. of Applied Sciences, Harvard University
- i. DuPont Co., Central Research & Development Dept., Experimental station

### 3.3 研究機関の概要とその活動

上記2. に示した各研究機関の概要とその活動を以下の添付資料にまとめる。

添付資料 3.1 国内研究機関

添付資料 3.2 海外研究機関（微生物全般）

添付資料 3.3 海外研究機関（微生物腐食）

添付資料 3.1 国内研究機関

1. 微生物工業技術研究機関
2. 公害資源研究所
3. 放射線医学総合研究所
4. 東京ガス株式会社
5. 島根大学農学部

(以上 5 件)

1. 微生物工業技術研究所（通産商工業技術院）

(Fermentation Research Institute)

(1) 所在地 : 〒305 茨城県つくば市東1-1-3

(2) 電話 : 0292-54-6023

(3) 職員数 : 純数90名

(4) 設立 : アルコール燃料の生産技術確立のため昭和15年3月1日に設立。

(5) 業務内容 : 工業技術院傘下で唯一の生物系機関として微生物の有する機能を広く鉱工業や環境保全などに応用することを企画、研究している。研究内容は、

①微生物・細胞基礎技術

- a. 遺伝子組換えによる微生物の育種
- b. 動植物細胞の増殖と遺伝子発現制御
- c. 動物細胞の機能制御
- d. 微生物の長期保存

②酵素応用技術

- a. 糖質関連酵素の生産と利用
- b. 還元反応バイオリアクターの開発
- c. リバーゼの生産と利用

③微生物応用技術

- a. 微生物による有用物質の生産
- b. 有機合成化合物を分解する微生物の研究
- c. 微生物によるガス状物質の利用
- d. 有機金属化合物の微生物変換

④資源エネルギー関連技術

- a. エタノールの効率的生産
- b. 微生物による水素の生産

⑤公害防止技術

- ・排水の生物処理技術（バイオリアクター）の開発

2. 公害資源研究所（通産商工業技術院）

(National Research Institute for Pollution and Resources)

(1)所在地 : 〒305 茨城県つくば市小野川16-3

(2)電話 : 0292-54-3026

(3)職員数 : 総数314名

(4)設立 : 大正9(1919)年農商務省の燃料研究所として設立。昭和27年鉱業技術試験場と総合した資源技術試験場を経て、昭和45年より公害部門を拡充し現在に至る。

(5)業務内容 : 資源の開発、利用、産業保安並びに公害防止に関する研究を実施。微生物関係では硫酸塩還元菌の基礎研究として水域での分布調査などを行っている。

3. 放射線医学総合研究所

(National Institute of Radiological Sciences)

(1)所在地 : 〒260 千葉市穴川4-9-1

(2)電話 : 0472-51-2111

(3)職員数 : 総数402名

(4)設立 : 昭和32(1957)年設立。

(5)業務内容 : 放射線による人体の障害とその予防、診断、治療および放射線の医学利用に関する調査研究とこれらに従事する技術者の養成訓練について多くの成果を挙げている。放射線生物学に関する「放射性物質の代謝と蓄積」の研究では、「陸圏環境における放射性核種の挙動に関する基礎研究」や「環境における放射性物質及び安定元素の存在状態と循環に関する生物地球化学的調査研究」などを実施している。

4. 東京ガス株式会社・技術研究所

(1)所在地 : 〒105 港区芝浦1-16-25

(2)電話 : 03-3452-2211

(3)研究者 : 梶山文男氏、他

(4)設立 : 昭和52(1982)年

(5)研究内容：地下埋設鋼管の微生物腐食に取組み、硫酸還元菌による鋼管の腐食などについて精力的に研究を進めてきている。微生物腐食の分野では日本で唯一世界的レベルにあるといわれる。最近では鉄酸化細菌が関与する工業用水用SUS304ステンレス鋼管の微生物腐食の研究に取り組んでいる。昨年IOB（鉄酸化細菌）の活動を初めて定量化した成果を報告して注目された\*。梶山文男氏は本年より設立された（社）腐食防食協会の「微生物腐食研究会」の世話を勤めている。

\* International Congress on Microbially Influenced Corrosion, Knoxville, Tennessee, USA, October 7-12, 1990

#### 5. 島根大学農学部農芸化学科

(1)所在地 : 〒690 松江市西川津町1060

(2)電話 : 0852-21-7100

(3)研究者 : 理学博士森忠洋教授、他

(4)研究内容：硫酸還元菌、硫黄酸化細菌の応用研究を主体として、コンクリート下水管、モルタルの微生物腐食のメカニズム、腐食速度、腐食生成物、腐食条件などについて研究を精力的に進めている。

添付資料 3.2 海外研究機関（微生物全般）

1. ベルギー

- ペトロフィナ・グループ・リサーチ・センター  
(LABOFINA)

2. イギリス

- a. イギリス水質センター  
(WRC:Water Research Center)
- b. 英国石油サンベリー研究センター  
(BP Research International, Sunbury Research Center)
- c. 英国・ワーレン・スプリング研究所  
(Warren Spring Laboratory)

3. フランス

- a. ジョゼ・デルビィユ社セザンブル海洋腐食試験センター  
(Cezembre Corrosion Testing Centre, Societe Jose Delville)
- b. フランス海洋開発調査研究所  
(IFREMER:French Research Institute for the Exploitation of the Sea)

4. オランダ

- a. オランダ医学生物学研究所  
(TNO:Medical Biological Laboratory)
- b. オランダ・G B 社ベイレリンク研究所  
(Gist-Brocades Beijerinck Laboratory)
- c. オランダ放射線生物学研究所  
(TNO Radiobiological Institute)

5. ドイツ

- カールスルーエ原子力センター  
(Karlsruhe Nuclear Research Center)

6. ハンガリー

- a. ハンガリー酵素学・生物学研究センター  
(Institute of Enzymology, biological Research Center, Hungarian Academy of Science)  
b. ハンガリー土壤・農芸化学研究所  
(Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Science)

7. カナダ

- ブリティッシュ・コロンビア州研究所  
(B. C. Research)

8. イスラエル

- イスラエル石油・エネルギー研究所  
(Israel Institute of Petroleum and Energy)

9. 中国

- a. 中国科学院微生物研究所  
(Institute of Microbiology, Academia Sinica)
- b. 中国科学院南京土壤研究所  
(Institute of Soil Science, Academia Sinica)
- c. 中国科学院金属腐食・防護研究所  
(Institute of Corrosion and Protection of Metals, Academia Sinica)

ベルギー

・ペトロフィナ・グループ・リサーチ・センター

(LABOFINA)

(1)所在地 : 33 rue la Loi, B 1040 Brussels, Belgium

(2)設立 : 1952年、世界的規模の総合石油会社ペトロフィナ・グループの各研究所を統轄する中心的な中央研究機関として設立される。

(3)組織 : William Bracke 所長。設立当時50名程度の研究員が、現在は数百名に達し、ヨーロッパ、アフリカ、アメリカなどに子会社を持ち、科学技術全般にわたり支援する体制を取っている。

(4)活動 : 研究分野は石油化学分野を中心に、分析、有機化学、精製、燃焼、潤滑、特殊製品などの各専門分野にわけて研究を行なう。このほか地球物理学、地球化学、沈殿学、古微生物学などの分野も取扱っている。重要な部門は分析関係で、紫外線、可視線、赤外線分光写真機、コンピュータなどを用いて有機化学分析を行なっている。また、地球化学、沈殿学、古微生物学分野にも特に力を入れている。

(5)連絡者 : Mr. I. Laznowski, Directeur

イギリス

1. イギリス水質センター

(WRC:Water Research Center)

(1)所在地 : HENLEY Road, Medmenham, P. O. Box 16, Marlow, Bucks, SL7 2HD  
England Tel. 0491 57 1531

(2)設立 : 1974年。水質汚染調査研究所として1927年に設立された機関が前身。英国の水産業向けに研究成果の提供やサービスを行なう。

(3)組織 : Mr. B. V. Henderson会長、Mr. M. J. Rouse 所長。3研究所 (MEDMENHAM, STEVENAGE, SWINDON) に分れている。

(4)活動 : プロセス技術、環境保全、公害コントロール、パイプライン技術、情報技術の研究を進めている。Swindon は下水などのエンジニアリングを、Medmenhamは環境を、Stevenage はプロセス関係をそれぞれ担当して研究に取り組んでいる。微生物関連では、バクテリア酵素の助けを借りた大量の排

水処理設備の開発やメタンガスの発生あるいは殺菌土壤の研究を行なっている。1987年の英国環境賞を、下水スラッジの低温殺菌法の開発によって受けている。

(5)連絡者 : Mr. J.F. Bray , Press and Public Relations Assistant

## 2. 英国石油サンベリー研究センター

(BP Research International, Sunbury Research Center)

(1)所在地 : Chertsey Road, Sunbury on Thames, Middlesex, TW16 7LN England

Tel. 0932-781234

(2)設立 : 1917年。石油にかかる研究、開発、技術サービスを行なうために設置された。

(3)組織 : Mr. Mike Collett所長。BPは世界中で研究活動を展開しており、仏、西独にも研究センターを持っているが、ロンドン郊外のサンベリーが最大規模。主な研究部門は、探査、生産、操業、製品、新技術、分析、技術サービス、支援サービスなど。

(4)活動 : 石油化学の他に、石炭、各種鉱物、先端材料、光電池、栄養などの研究開発も行っている。探査活動は北海天然ガス、石油田の活躍で知られており、操業関係は、パイプライン分野の高い水準の研究成果をあげている。化学、物理、微生物学などの基礎研究には定評がある。事業の主体は、石油だが、石油産業に関する研究は、地殻に関する地質学から微生物による石油蛋白まで多様な範囲に及ぶ。最近では航空機用の金属複合材まで開発している。

(5)連絡者 : Dr. C.G.V. Burgess , Manager, Public Affairs

## 3. 英国・ワーレン・スプリング研究所

(Warren Spring Laboratory)

(1)所在地 : P.O. Box 20 Gunnels Wood Road, Stevenage, Herts SG1 2BX  
Tel. (0438)74-1121

(2)設立 : 1973年、産業省所管で政府、企業に対する委託共同研究契約制度により運営される。

(3)組織 : Dr. John Reay 所長以下、約 400名。コントロール・エンジニアリング、

バイオテクノロジー分離、ミネラル・金属、材料処理、材料回収、公害防止、大気汚染、油・化学汚染など。

(4)活動 : 大きくわけて工業技術部と環境部門になる。工業設計部門では特殊材料や取り扱いにくい液体を、また環境技術部門では空気汚染や海洋汚染問題をそれぞれ研究の対象としている。最近は生物工学部門にも力を入れ、微生物や分離技術の確立あるいは好熱硫黄菌の研究も進めている。

(5)連絡者 : Mr. FIONA C. MAIR , Publicity officer

### フランス

#### 1. ジョゼ・デルビィユ社セザンブル海洋腐食試験センター

(Cezembre Corrosion Testing Centre, Societe Jose Delville)

(1)所在地 : 46 bis, rue du Marechal Joffre 78100 Saint Germain En Laye  
Tel. 33-1-34-51-62-11

(2)設立 : 1973年、イギリス海峡に面したサンマロ湾に設立、戦時中破壊されたが、戦後再建された。

(3)組織 : Mr. Jose Delville 所長。

(4)活動 : 海軍省、航空省、電力庁などからの委託研究により、腐食試験を行ない、研究成果は世界的にも認められており、海外からの委託研究も多い。研究には、各種のテスト施設を必要とするので、試験装置の開発に力を入れている。またテスト材料は塩水に弱い各種金属と合金、溶接物、金属または薬剤被覆物、たとえば電気めっき物、ニッケルめっき物、クロムめっき物などで、錆や汚染の原因となる微生物の影響などについても研究を行っている。

(5)連絡者 : Mr. Jose , Deville Director

#### 2. フランス海洋開発調査研究所

(IFREMER:French Research Institute for the Exploitation of the Sea)

(1)所在地 : 66 Avenue d'Iena, 75116 Paris, France Tel. 47-23-55-28  
(2)設立 : 1984年。フランス海洋開発センターとフランス漁業研究所が合併して新発足した。

- (3)組織 : Mr. Yves Sillard所長。スタッフは熟練した科学者と技術者1200名を数える。研究は海洋調査船や陸上施設を利用して行なわれ、政府や大学との共同研究が多い。
- (4)活動 : 海洋開発の調査と技術開発を目的とした国立の研究機関。研究部門は「エンジニアリング・技術」「生物資源」「環境・海洋資質」に大別される。主な研究は、ロボット・潜水艇、公害汚染、海洋学、遠隔探査、漁獲技術、漁業、地質学、毒物学、養殖などである。地質・鉱業庁やフランス石油協会、フランス海軍などとも協力体制を組んでおり、海底資源の利用や漁類の保護・養殖、さらに微生物などのあらゆる海洋開発に関する問題について研究を行なう。環境・海洋探査では、地理・地質学的な探究、物理的な海洋学、沿海部の管理、深海生態学などを行なっている。
- (5)連絡者 : Dr. Yves Henocque, Direction of Economic Affairs and International Cooperation

### オランダ

1. オランダ医学生物学研究所  
(TNO:Medical Biological Laboratory)
- (1)所在地 : 139 Lange Kleiweg 2288 GJ Rijswijk near Hague P. O. Box 45,  
Holland Tel. 015-138777
- (2)設立 : 1947年、オランダ応用科学研究期間(TNO) 所属の研究所として設立される。当時は国防研究部内に属していたが、1977年に保健研究部門に移管された。
- (3)組織 : Dr. Willem F. Stevens 所長以下スタッフ 120名で、毒物および医学生物学研究の関連分野。
- (4)活動 : 予防と治療を目的とする研究分野では、化学剤での刺激剤、微生物による感染、放射損傷を研究。化学薬剤への研究では、毒物の効果・影響、動物や隔離有機物の適切な解毒法、神経毒性化学剤の機構、神経・筋肉への化学薬剤の影響、免疫システムにおける毒物合成の影響、化学剤にさらされた工場労務者の健康問題が研究されている。微生物学的研究分野では、呼吸気管の免疫、バクテリアおよびウイルスに対する紫外線効果とこれによる大気の汚染が主体であるが、放射性物質による生物学的影響がとくに

重要な研究として取り上げられるようになってきており、培養細胞および微生物に対する放射線の影響などが主な研究テーマとなっている。放射性物質の生物学的影響、その他毒性の残留性の研究など毒物、微生物などに関する研究を推進。

(5)連絡者 : Dr. Willem F. Stevens

### 2.オランダ・G B社バイエルリンク研究所

(Gist-Brocades Beijerinck Laboratory)

(1)所在地 : Gist-brocades nv, P.O.Box 1, 2600 MA DELFT, Netherlands

Tel. 15-799111

(2)設立 : 1984年。研究社名のベイエルリンクは、著名な微生物学者のDr. Matinns W. Beijerinckの名前に因んでつけられた。

(3)組織 : Dr. Nico Kossen 所長。応用生化学、醸酵プロセス。分子遺伝学、製薬研究、プロセス・エンジニアリングの部門があり、微生物を中心とした研究に取り組んでいる。

(4)活動 : 食品関係ではイースト菌、酵素、製薬関係では各種抗生物質、ステロイド、治療用蛋白質などの研究を行なっている。微生物関連では、ここ数年の研究では排水処理システムが各方面から強い関心を呼んだ。これは、タンク中で微砂粒に微生物層を形成し固定したものを廃水と対流させ、嫌気性微生物によって有機物を分解し、メタンガスを取り出す仕組みのものである。現在この排水処理システムについては、あらゆる廃水処理に向くシステムに改良するための開発が進められている。

(5)連絡者 : Drs. W. de Kool, Research and Development, Scientific Department

### 3.オランダ放射線生物学研究所

(1)所在地 : P.O.Box 5815, 2280 HV, Rijswijk, Holland Tel. 31-15-136940

(2)設立 : 1956年。オランダ応用科学研究所(TNO)に所属する研究所として設置された。

(3)組織 : Prof. Dr. Dirk Willem Van Bekkum所長の下で約30名の科学者を擁している。放射線や同位元素によるあらゆる障害の問題や防護の研究のために設

立された。TNO に所属する実験老人病学研究所、靈長類センターと同一の敷地内に設置されている。

(4)活動 : イオン化放射線の生物科学的な影響や細胞・組織の反応を研究したり、免疫とくに癌の研究を行なっている。主な研究分野は、①放射線生物学、②実験血液学、③骨髄移植、④癌の実験的処置、⑤イオン化・非イオン化放射線の施薬学、⑥ノトバイオテックス、⑦処置における実験腫瘍学および癌性物質、⑧実験遺伝子治療ーなど。

(5)連絡者 : Dr. D. W. Van Bekkum Prof.

#### ドイツ

・カールスルーエ原子力センター

(Karlsruhe Nuclear Research Center)

(1)所在地 : P. O. Box 3640, D-7500 Karlsruhe 1, West Germany Tel. 07247-821

(2)設立 : 1956年。西独政府90%、バーデヴィルテンベルク州10%の出資により設立された。

(3)組織 : Prof. Dr. Horst Bohm所長。研究部門は、部門 I = 原子炉開発と原子炉安全性、部門 II = 新技術と基礎研究、部門 III = 技術・科学的なインフラストラクチャー、に分れる。さらに各部門の下に中性子物理・原子炉エンジニアリング、核物理、核融合、放射線化学など28部がある。

(4)活動 : 連邦政府の計画の沿った研究活動をしている。具体的には、①高速増殖炉、②分離ノズル法、③核融合、④再処理・廃棄物管理、⑤最終貯蔵、⑥環境・安全、⑦固体・材料研究、⑧核物理学・分子物理学、⑨マイクロ技術、⑩ハンドリング技術の研究を行なっている。遺伝・毒生物学研究では、生物細胞における放射性核種の影響とか重金属の排泄促進剤の開発を行っている。

(5)連絡者 : Dr. Klaus Korting, Head of the Public Relations Department

#### ハンガリー

1. ハンガリー酵素学・生物学研究センター

(Institute of Enzymology, biological Research Center, Hungarian

Academy of Science)

- (1) 所在地 : H-1113, Budapest, Karolina UT 29, Hungary , Tel. 36-1-668-858
- (2) 設立 : 1950年。ハンガリー科学アカデミーの生化学研究所として設置された。  
1972年から生物学研究センターとなり、1972年に現在の体制に改組された。
- (3) 組織 : Prof. Tamas Keleti所長。同氏はハンガリー科学アカデミーの会員。酵素を専門とするユニークな研究所であり、研究部局は20を越える大組織となっている。
- (4) 活動 : 酵素の超高分子組織、新陳代謝の規則、プロテアーゼ（蛋白質に作用する酵素）の動きのメカニズム、神経-酵素学、細胞外の蛋白質加水分解と細胞増殖、酵素動力学、蛋白物理学、免疫化学、植物細胞の高分子などをテーマにした研究部門がある。
- (5) 連絡者 : Mr. Judit Ovadi Doctor

## 2. ハンガリー土壤・農芸化学研究所

(Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry

of the Hungarian Academy of Science)

- (1) 所在地 : H-1022 Budapest, Herman O. ut 15. Hungary , Tel. 564-682
- (2) 設立 : 1949年。土壤化学、農芸化学、土壤生物学の基礎研究を行うためにハンガリー科学アカデミーの付属研究機関として設置された。
- (3) 組織 : Prof. Dr. Gyorgy Varallyay所長。土壤生物学&土壤生化学、農芸化学、&植物栄養、土壤科学の3研究部門のほか、微細胞構造分析ラボ、アイソトープ・ラボ、実験農場がある。
- (4) 活動 : 土壤に関する高度な研究を行なっており、①各種の目的に使できる土壤分布地図の作成、②コンピューター利用による土壤データ・バンク、  
③リモート・センシング、④モニター技術などと取り組んでいる。農業の実用的な研究にも手を広げている。
- (5) 連絡者 : Prof. Dr. G. Varallyay Director

## カナダ

- ・ブリティッシュ・コロンビア州研究所

(B. C. Research)

- (1)所在地 : 3650 Wesbrook Mall Vancouver, B.C., Canada, V6S 2L2  
Tel. (604)224-4331
- (2)設立 : 1944年、ブリティッシュ・コロンビア大学に「大学と産業界の技術的な橋渡し」を目的として設立された。
- (3)組織 : Terrence E. Howard所長以下約 150名が、応用生物学部、応用化学部、工学・物理学部、経営サービス部、漁業技術部の5つの部門に配属されている。なお、州政府とは密接な関係をもっているが、独立した民間組織である。
- (4)活動 : 大部分が民間との契約による委託研究であるが、研究活動はきわめて広範囲で、とくに (1)石炭ガス化・液化、木材のガス化、(2)鉱石の生物学的抽出、(3)水質および大気汚染、環境インパクト調査、(4)工業衛生(発がん物質の研究)、(5)道路連続撮影および測定装置、(6)波動補正クレーン、(7)海洋工学センター、(8)製品開発管理センターなどの研究開発を手がけている。廃棄物処理分野については化学者、生物学者および専門エンジニアが参加し学際的な研究が行われている。1次処理技術として浮遊固体物の沈殿およびろ過法、金属イオンの沈殿促進法。2次処理法として有機物の微生物酸化法、活性汚泥法などあらゆる方法が研究対象となっている。
- (5)連絡者 : Mr. V. Esen, Head Research Librarian

イスラエル

- ・イスラエル石油・エネルギー研究所

(Israel Institute of Petroleum and Energy)

- (1)所在地 : Tel-Aviv, Ramat-Aviv, 26 University St., P.O.B.17081, code61170  
Israel, Tel. 03-414271
- (2)設立 : 1964年。当初は石油産業のためであったが、その後はイスラエルのエネルギー節約と効率的な利用法の開発、その情報を普及させるのが目的となっている。
- (3)組織 : Dr. Ziv Dinsteiin委員長。古微生物学研究部、化学研究部、掘削(泥、

セメント) 研究部、エネルギー節約班、情報センターから構成されている。このほか付属研究機関として、ベルファー・エネルギー研究センター、石油・エネルギー科学スクールがある。

- (4)活動 : 研究所が行なっている液体燃料の化学的な探求や古微生物学研究などは、石油資源の乏しいイスラエルにとっては大変重要な意味をもっている。古微生物学研究部門は、微生物学と層序学(岩層、とくに堆積層の形態とか配列、地理的分布、年代的連続性を対象とする)を専門とする基礎的な研究に取り組んでいる。こうした研究は石油探査の際、有力な手がかりとなるもので、研究成果は国内の石油探査会社をはじめ、関係機関にとり貴重なデータとなっている。研究所からは「石油・エネルギー・ニュース」「微生物学」などの刊行物が定期的に出されている。

## 中国

### 1. 中国科学院微生物研究所

(Institute of Microbiology, Academia Sinica)

- (1)所在地 : 中国北京市中閏村 (Zhongguancun, Beijing, China) Tel. 282057
- (2)設立 : 1958年、中国科学院北京微生物研究室と中国科学院応用真菌研究所とが合併して成立した。当時は7研究室体制。中国の菌類学の創始者である植物病理学家の戴芳瀾(Tai Fanglan)教授が初代所長であった。
- (3)組織 : 宋大康(Song Da-kang)所長以下、所員総数 600名。直接、研究に従事するのは 400数名で、このうち、高級研究技術者は 126名。第1研究室から第8研究室まであり、真菌分類、細菌分類、病毒学、生態学、微生物代謝、酵素、遺伝学、菌類保藏というテーマである。試作工場のほか、微生物技術開発公司もある。
- (4)活動 : 8研究室の活動を中心に、国際的な学術交流も盛んである。今後の努力方向は、マイクロバイオテクノロジー(微生物技術)、微生物の資源研究、遺伝、生理代謝、生化工学、遺伝子工学など多面的な研究開発に取り組む。環境に関する微生物活動は、微生物生理生態研究室(第四研究室)で行っており、工業廃液の微生物処理、油田微生物、鉱物微生物、地下金属埋設物の腐食、非金属材料の防腐、極限状態下における微生物の生態研究がすす

められている。さらに「中国的真菌」、「中国真菌学と植物病理学文献」、「中国銹菌索引」、「中国经济植物病原録」などの優れた著作があり、工業微生物学、大地微生物学、腐食微生物学、抗生物質などに大きく貢献、醸造、酒精、有機酸、毛皮加工、石油探削など多方面にわたる。

## 2. 中国科学院南京土壤研究所

(Institute of Soil Science, Academia Sinica)

- (1) 所在地 : 中国江蘇省南京市北京東路71号、信箱 821(P.O. Box : 821, 71, East Beijing Road, Nanjing, Jiangsu Province, China)  
Tel. 633552, Telex. 34025 ISSAS CN
- (2) 設立 : 1953年。
- (3) 組織 : 所長 : 趙其國(Zhao Qirguo)、副所長 : 馬毅杰(Ma Yi-jie)、劉才勇(Liu Cai-yong)。業務機構は、土壤地理、土壤、植物栄養化学、土壤物理化学、土壤微生物、土壤塩漬地球化学、土壤生物化学、土壤物理、土壤環境保護、土壤電化学、土壤生態、計算機応用、図書情報の13研究室と開放研究実験室、中国南部、中部、北部の三個所の生態実験ステーション、編集翻訳出版室。所員は 500名で、60%は高級工程師、工程師、技術者。
- (4) 活動 : 発表論文は2000余、科学技術成果は 126項目に達する。土壤の起源、組成、構造、土壤改良、環境生態など研究範囲は土壤に関する全分野。開放研究実験室を中心に外国の科学者との交流も活発。国際組織の共同研究も進めている。

## 3. 中国科学院金属腐食・防護研究所

(Institute of Corrosion and Protection of Metals, Academia Sinica)

- (1) 所在地 : 中国遼寧省瀋陽市文萃路(Wencui, Road, Shenyang, Liaoning Province, China) Tel. 483115
- (2) 設立 : 1982年12月設立。中国科学院に所属する。
- (3) 組織 : 柯偉(Ke Wei)所長のもとに、8つの専門部門に分かれて、基礎から応用まで研究を進めている。遼寧省瀋陽市の金属研究所と吉林省長春市の応用化学研究所の関係部門が合併。

(4)活動 専門部門は、腐食電気化学、高温酸化、熱腐食、金属防護、抗腐食合金、環境刺激破壊、環境腐食、試験サービス実験室、情報サービスの各分野。腐食による損失は甚大で、この解決こそが中国の近代化を左右する大きな課題となっている。活動の範囲は、電気化学測定と研究、腐食酸化防止剤の研究、金属・非金属のコーティング、抗腐食合金と金属の抗腐食性の向上、高温腐食、腐食疲労と欠陥分析、地下腐食、大気腐食など研究開発への期待が高まっている。

添付資料 3.3 海外研究機関（微生物腐食）

イギリス

- (1) 研究機関 : University of Manchester Institute of Science and Technology  
(UMIST), Corrosion and Protection Centre,  
(2) 研究者 : R. C. Newman, B. J. Webster  
(3) 住所 : P. O. Box 88, Manchester, M60 1QD, UK

クウェート

- (1) 研究機関 : Kuwait Institute for Scientific Research  
(2) 研究者 : V. K. Gouda  
(3) 住所 : P. O. Box 24885, 13109 Safat, Kuwait

カナダ

- (1) 研究機関 : Department of Biological Sciences, University of Calgary  
(2) 研究者 : J. W. Costerton  
(3) 住所 : 2500 University Dr. N.W. Calgary, Alberta T2N 1N4, Canada

アルゼンチン

- (1) 研究機関 : Bioelectrochemical Section, INIFTA university of La Plata  
(2) 研究者 : M. F. L. de Mele  
(3) 住所 : S. 4. CC 16 (1900) La Plata, Argentina

イタリア

- (1) 研究機関 : CNR-ITM  
(2) 研究者 : G. Taccani  
(3) 住所 : Milano, Italy

アメリカ

1. Rensselaer Polytechnic Institute  
a. 研究者 : Daniel H. Pope, David Duquette  
b. 住所 : MRC 303, Troy, NY 12189, USA

2. College of Marine Studies, University of Delaware

a. 研究者 : Stephen C. Dexter

b. 住所 : Lewes, DE 19958, USA

3. Naval Oceanographic and Atmospheric Research Laboratory

a. 研究者 : Brenda J. Little

b. 住所 : Stennis Space Center, MS 39529-5004, USA

4. Institute for Applied Microbiology, University of Tennessee

a. 研究者 : David C. White

b. 住所 : 10515 Research Dr. Suite 300, Knoxville, TN 37932, USA

5. Center of Marine Biotechnology, University of Maryland

a. 研究者 : Marianne Walch

b. 住所 : 600 E. Lombard St., Baltimore, MD 21202, USA

6. Structural Integrity Associates

a. 研究者 : George J. Licina

b. 住所 : 3150 Almaden Expressway, Suite 226, San Jose, CA 95118, USA

7. Center for Interfacial Microbial Process Engineering Research

a. 研究者 : W. G. Characklis

b. 住所 : Bozeman, MT 59715, USA

8. Div. of Applied Sciences, Harvard University

a. 研究者 : T. Ford

b. 住所 : Cambridge, MA, USA

9. DuPont Co., Central Research & Development Dept., Experimental Station

a. 研究者 : R. Tatnall

b. 住所 : Delaware, USA

## 第4章 海外研究機関の微生物研究への取組状況調査

### 4.1 概要

我が国においては、微生物の活動や影響に焦点を当てて放射性廃棄物地層処分の技術や安全評価を研究した例はこれまでにはない。しかし第1章や第2章でまとめたように、海外の研究機関においては以前から地層処分の安全評価に関する微生物活動について研究を実施しているところもある。こうした諸研究機関の活動は、これから具体的な調査、実験を始めるものにとっては研究計画の立案や研究対象の検討の際の参考となることはもちろんであるが、そればかりではなく、研究に対する取組み方や実績などからこのテーマの重要性や研究の進捗度が世界的な視野で把握でき、今後のわが国での本テーマへの取組を考える上で有益な検討材料となる。そこで今回、以下に示す海外の主要な原子力研究機関7つを対象として、地層処分に関する微生物の研究、技術開発の状況を調査した。

調査は、微生物の研究状況に関する質問をまとめたアンケートを各研究機関に送付して回答を回収する方法とした。

### 4.2 調査研究機関

海外の主要な原子力研究機関として次の7つを調査対象とした。コンタクト先として動力炉・核燃料開発事業団、地層処分開発室(GIS) 殿より紹介いただいた個人名も以下に併記する。

- ① N A G R A (スイス) : Dr. I. G. McKinley, R&D Coordinator
- ② A E C L (カナダ) : Mr. McDowall, Commercial Operations Office
- ③ H a r w e l l (イギリス) : Dr. J. A. Berry, Experimental Studies Dept.
- ④ C E A (フランス) : PNC パリ事務所経由で郵送を依頼した。
- ⑤ M o I (ベルギー) : Dr. A. Bonne, Geotechnology Section
- ⑥ P N L (アメリカ) : Dr. B. P. McGrail, Materials and Chemical Science
- ⑦ S K B (スウェーデン) : Dr. P. E. Ahlstrom, Div. of Research and Development

#### 4.3 調査内容－アンケートの内容－

質問は大きく次の3項目に分けた。

①General Question : 研究実施の有無、対象としている廃棄物の種類などについて。

②Current Study Situation : 現在実施中の研究内容－研究ステージ、テストサイト、確認した微生物、研究すべきテーマと微生物種、ホット試験、サンプラーの開発、従事している専門家などについて。

③Miscellaneous : 微生物関連の会議の情報についてなど。

アンケート用紙を添付資料 4.1に示す。

#### 4.4 各国研究機関の取組状況－回答のまとめ－

アンケートの回答を整理し、比較した回答一覧を表 4.4-1に示す。

#### 4.5 回答（オリジナル）

各研究機関から得られたアンケートの回答（オリジナル）を添付資料 4.2～4.8 に示す。

添付資料 4.2 N A G R A (スイス)

添付資料 4.3 A E C L (カナダ)

添付資料 4.4 H a r w e l l (イギリス)

添付資料 4.5 C E A (フランス)

添付資料 4.6 M o l (ベルギー)

添付資料 4.7 P N L (アメリカ)

添付資料 4.8 S K B (スウェーデン)

#### 4.6 その他の資料

アンケートの回答とともに送付された次の資料を添付する。

(1) AECLより : 3rd Meeting of the International Group MIND

-Microorganisms in Nuclear Waste Disposal-

Edinburgh, Scotland, September 12-14, 1990 のプログラム

(添付資料 4.9)

表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況－アンケート調査結果－(1/5)

研究機関 質問事項	N A G R A	A E C L	H a r w e l l	C E A	M o l	P N L	S K B
1. General							
(1) 放射性廃棄物関連の微生物研究を実施中か？	Yes Lab.Study,Modelling, Natural.Analogueを含む	Yes 1990年後半にまとめている。 初期の調査は1979-86。	Yes			Yes 汚染された浅地層環境の微生物による改質と処分場の特性評価のための基礎研究とプロセス開発を実施中。	Yes
(2) どのような廃棄物を対象として微生物の研究を実施しているのか？	すべての廃棄物。 ただしL/LWに注力している。	LW ・核燃料処分のためのAECL概念の環境でアセントレビューにおいて微生物の活動評価を満足する必要がある。 ・ただし微生物の活動に関する研究はすべての核廃棄物に関係する。	LLW			LLW,ILW,HLW. ハンフォードサイトにおいてはすべての廃棄物を研究している。	LLW,ILW,HLW. ・LLW,ILWに関する研究は実施済。 ・HLWに関する研究は現在進行中。
(3) いつそうした分野の調査／研究を始めたか？	10年前 最初の文献調査とラボテスト	10年前	5年前			10年以上前。 放射性廃棄物処分に関する土壤植物、地下水、河川の生態系の基礎研究は20年以上実施している。	10年前
(4) 開始当初最初の研究として実施したものとは何か？	①文献調査（微生物活動の影響, biocide の効果など）。 ②実験（ビチューメンの微生物劣化）。 ③Field Sampling (於, Grimsel 地下研究所と処分場候補地)。 ④モデルの開発	①文献調査と予備的なフィールドおよびラボ調査 (1979-86)。 ②栄養素とエネルギー源の分析に基づくモデリング (1986)。	文献調査			①文献調査 ②フィールドサンプリングと分析	文献調査
(5) 微生物に関する研究計画の概要是？ そしてその中の今現在の位置は？	①L/LWニアフィールドにおける微生物活動の研究 (実施中：契約者 : Dr.J.M.West.BGS) ②extreme alkalophilesの実験および文献調査 (実施中：契約者 : Prof. R.Bachofen.Uni Zurich)	計画を検討中。	現状は、 ①処分場で微生物は生き残るか。 ②主要な影響は何か。 ③それらの影響の大きさはどの位か。 について研究中。			廃棄物処分に関わる微生物研究プログラムの内容については公開できない。	これまでの研究に関する Annual Report がある。 (送付を依頼中)

表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況－アンケート調査結果－(2/5)

研究機関 質問事項	N A G R A	A E C L	H a r w e l l	C E A	M o I	P N L	S K B
(6) 处分場への微生物の影響に関する研究計画を持っているか？ またどのタイプの廃棄物に関心があるか。	③処分場／廃棄物パッケージにおける微生物活動のコンピュータモデル (テスト中, 契約者: Dr.H.Grogan, Intera Sciences) ④Pocos de Caldas (U roll front)とJordan (超アルカリ系)におけるナチュラルアナログ研究 (報告書作製の最終段階) ⑤正式な処分場性能評価への微生物学の導入 (計画中)	回答なし	Yes AECLの主要な計画は Canadian Nuclear Fuel Waste Management Program (HLW) に関するもので、地下研究室での実験を含む。	Yes LLW		Yes 長期にわたるバリアの健全性の研究の支援を政府に依頼することを含めて計画中。	Yes HLW ・ LLW と ILW に関する研究はほとんど終了したと考えている。
2. 現在の研究状況について							
(1) 計画全体の中で現在実施中の研究段階は？	応用的 (Applied) モデル作製とそのValidationを行っている。	予備的 (Preliminary)	基礎的 (Basic) および応用 (Applied)			予備的 (Preliminary)	基礎的 (Basic)
(2) 現在実施中の研究は？	①Field Test (核種移行, 吸着, 地下水化学組成の変化等 微生物の活動に関する試験) ②Lab. Test (有機, 無機物との相互作用, 地下水化学組成の変化, 核種の取り込みに関する試験)	①研究計画の立案中。 ②文献調査などの予備研究を実施中。	①Field Test (サンプリング, 計数, 同定など) ②Lab. Test (サンプリング, 計数, 同定, 培養など)			①研究の準備。 ②Lab. Test (アスファルト劣化の研究) ③Lab. Test (浅地層微生物による特定核種の取り込みの研究)	①Field Test (サンプリング, 計数, 同定など) ②Lab. Test (サンプリング, 計数, 同定, 培養など)

表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況－アンケート調査結果－(3/5)

研究機関 質問事項	N A G R A	A E C L	H a r w e l l	C E A	M o 1	P N L	S K B
(3)研究計画にはどのような専門家が従事しているか?	③モデル作成 (核種移行, 吸着, 地下水化学の問題を含む地球化学的環境への微生物の影響評価, 予測のモデル)	③サンプリング, 計数, 同定などのPielie Test を最初の試験計画として実施する。	③Lab.Test (有機／無機物との相互作用, 地下水化学組成の変化, 核種の取り込みといった代謝活動に関する研究)  ④モデル作成 (核種移行, 吸着, 地下水化学の問題を含む地球化学的環境への微生物の影響評価, 予測のモデル)				③Lab.Test (有機／無機物との相互作用, 地下水化学組成の変化, 核種の取り込みといった代謝活動に関する研究)  ④モデル作成 (核種移行, 吸着, 地下水化学の問題を含む地球化学的環境への微生物の影響評価, 予測のモデル)
a.従事している専門家	・微生物学者 ・生態学者 ・化学者 ・数学モデル ・地質学者 ・地球化学者 ・性能評価担当者 (これらすべてが従事している)	・微生物学者 ・生態学者 ・化学者 ・生物学者 ・地質学者	・生物学者 ・化学者 ・モデリスト			回答なし。	・生物学者 ・化学者
b.必要と考える専門家	回答なし	回答なし AECLは十分に検討された地質, 水理および生物の研究計画をもっている。	同上				回答なし
(4)地下水あるいは土壤中でどのような種類の微生物の存在を確認したか?	広範囲の環境について研究。現在はoligotrophic alkalophilesに関心がある。SRBs, イオウ酸化細菌, 鉄バクテリア, メタン生成菌を確認している。	現在までは基礎研究で発表の段階ではない。 しかし適当な会議で予備的な知見について討議したい。	回答なし			同封した文献を参照のこと。メタン生成菌とSRB (硫酸塩還元菌)	

表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況－アンケート調査結果－(4/5)

研究機関 質問事項	N A G R A	A E C L	H a r w e l l	C E A	M o 1	P N L	S K B
(5)サンプル（地下水、土壤）を採取したテストサイトの名称、場所、深さ、岩石の種類は？	①Grimsel Test Site, 450 m, 結晶質岩 ②N-Switzerland boreholes 地表～2000m, 結晶質岩／堆積岩 ③Wellenberg boreholes, 地表～500 m, 堆積岩 ④Tunnels, 500 m位の表土, 堆積岩, 結晶質岩, 石膏 ⑤Pocos de Calcas, U/Th鉱石, 地表～450 m ⑥Oman/Jordan. 高アルカリ泉	上記(4) 参照。 AECLの地下研究室を利用する予定。	回答なし			同(4)	Avro, Aspo, Laxemar and Stripa. 最も深い) サンプルは地下 800m の花崗岩から採取。
(6)地下水／土壤採取のためにどのようなサンプラーを使用したか？またサンプルの汚染を避けるためににいか工夫をしたか？	単純なサンプリング瓶 (surface seeps ) から 加圧型のボアホール用まで 広範に渡る。	通常のサンプリング (日本の開発に興味あり)	回答なし			浅地層のコアソルトのハンドリングと 無菌状態でのサンプリングを行う ために分割スプーン型(Split-spoon)のサンプリング装置とその 手法を開発した。	最大深さ約1000mのボアホールから乱されない地下水 サンプルを採取するための特別な装置を開発した。
(7)処分技術の安全評価の点から検討すべき微生物の活動は何か？ (5つ挙げて欲しい)	・微生物による錯体生成 ・ガス生成 ・Eh/pH の変化 ・核種の直接取込み (可動ならば) ・バリア材の劣化	・微生物の成長による処分 孔空隙水の酸化還元条件 の変化 (酸化還元条件の 変化は処分概念の可能性 に大きく影響する)。 ・岩石中での核種の吸着性 の変化	回答なし			・代謝活動 ・重金属と放射性核種の 移動への影響 ・キレート化剤と溶媒の劣化 ・バリア材の劣化 ・地下水の化学組成の変化	・地下水化学組成の変化と 核種の取り込み *はHLW に関してはよく検討課題 として挙げられる。 ・ILW と LLW については これらに加えてガス生成 と錯体形成剤の生成を 考えるべきである。 (*この2つはアンケート中に例としてこちらから挙げたものである。)
(8)地層処分場においての活動を研究すべき微生物の種類は何か？	・Alkalophiles ／Oligotrophis ・イオウ酸化細菌／硫酸塩 還元菌 ・金属沈殿／酸化細菌	本件は将来の検討項目	回答なし			分類学上の種類よりも機能 上共通な微生物集団や全体 としての微生物の集合体の方 が重要である。	どんな種類の微生物が存在 するかは化学的な環境に 依存する。又それは評価 すべき廃棄物への悪影響に も依頼している。

表 4.4-1 海外研究機関の微生物研究への取組状況－アンケート調査結果－(5/5)

研究機関 質問事項	N A G R A	A E C L	H a r w e l l	C E A	M o l	P N L	S K B
(9)微生物の活動研究のために放射性核種を使ったホット試験を現在実施しているか。あるいは研究計画があるか？	Yes BGSにおけるL/ILWのニアフィールド・ショミレーションは放射性核種を含んでいる。	Yes (将来計画有) AECLは現在微生物による放射性核種の吸着の調査を計画中でありつづいて核種の移行の研究を考えている。	Yes (現在実施中)			Yes (将来計画有) 浅地層微生物による放射性核種の取込みについて現在調査中。	Yes (現在実施中) 放射性核種の微生物への取り込みを調査中。
(10)どのようなホット試験を計画しているかあるいは処分における微生物の研究としてどんなホット試験が考えるか？	同(9)	現在検討中。 アクチニド元素に関してはホット試験は不可欠である。 他の放射性核種についてはRIを使用するのが分析上容易で適している。	プルトニウムの溶解に関する微生物の効果。			不均質系における放射性核種の挙動、移行を観察するための中規模ラボテスト。	In situ testを検討中。
3. その他							
(1)処分プログラムにおける微生物の活動の研究の優先度はどのくらいと考えるか？	中 主要な課題は長寿命のILW (TRU) である。	高 処分性能の安全性に対する微生物の影響に関する問題意識は挙がっている。ただ今日の段階では大きな注目は浴びていないので近い内には中～高いプライオリティを持つと考えられる。	中			高 処分場の長期健全性には微生物劣化に対する対策を含めるべきである。	中
(2)微生物の研究を進めるにはどのような技術が必要か？	微生物の速度論に関する測定やモデリングの技術。	フィールドサンプリング技術としてのハードウェアの改良。	回答なし			混合廃棄物(Mixed Waste)に対する標準的な微生物処理の研究計画。	現位置試験のための装置。
(3)放射性廃棄物処分における微生物の研究に関する会議。ワークショップに関するコメント。	MIND Group Meeting. 詳細な情報はDr.J.M.West. BGSから得ることが可能。	第3回International Group MINDの資料を添付する。 このグループは2年毎に会合を持っている。	Napier College (Edinburgh) のNick Christofi がまとめている。MIND Workshop.			回答なし。	Informal Meetings がこれまで持たれている。 Dr.N Christofi Pollution Res.Unit Napier Poly Technic 10 Colinton Rd. EDINBURGH EH10 5DT Scotlandに聞くとよい。

添付資料 4.1 海外研究機関へのアンケート用紙

注)

- ①問合せに当っては、その趣旨を説明する紹介の手紙とアンケート用紙をセットにして送付した。
- ②紹介の手紙とアンケート用紙を以下に示す。なお、手紙はNAGRA宛てのものをサンプルとして示す。

QUESTIONNAIRE

1.General

We think the study on the microbial effect on nuclear waste repository is one of the most complicated systems to be considered for the safety analysis for nuclear waste management. So we think a deeply considered research program, which assess microbiological activiy in the disposal site, should be needed at the start of the study.

As a start of the question, we would ask you your general status of it. Please choose the answer and make your comments if necessary.

(1) Is your organization now performing any investigations and/or studys on microorganisms effect on nuclear waste disposal?

Yes / No

Comments:

If Yes, please cintinue on the following questions.  
If No, please start from the question 1-(5).

(2) Which type of nuclear wastes you study on about the microorganism?

LLW / ILW / HLW

Comments:

(3) When did you begin to investigate and/or to study the field?

Just started / 5 years ago / 10 years or more ago

Comments:

(4) When you began the job, what kind of work did you do as your first study?

Literature Survey / Field Sampling and Analysis /other

Comments:

(5) Could you show us a summary of your research program for the microbiological activity? And when you would show us your current position in it, we would very much appreciated it.

(Please show them in the following column)

(6) Do you have any plans to study the microbial effects on the repository? And which type of waste is you interested in to study?

- a. Yes / No
- b. LLW / TLW / HLW

Comments:

Then we would like to ask you more specific item related your recent status of micoorganism study. If there are no problems, please continue to fill(check) the following questions(in case of you are now performing any research and/or have any reseach programs for geomicrobial effect on geological disposal):

## 2. Current Study Related

(1) What do you think the phase of your own current study on the microbial activity in your whole research program?

Preliminary/Basic/Applied

Comments:

(2) What kind of study are you doing now?

a. Preparation for a study

(e.g. Research Program Arrangement)

b. Preliminary study.

(e.g. Literature Survey)

c. Field test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification of Microbes,  
etc.,)

d. Field test-2

(e.g. Study on their Phenomenon : Nuclide  
Migration, Sorption, Alteration of Ground  
Water Chemistry, etc.,)

e. Laboratory Test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification,  
Enrichiment, etc.,)

f. Laboratory Test-2

(e.g. Study on their Metabolic Activity : Inter-  
action with Organic/Inorganic Materials,  
Alteration of Ground Water Chemistry, Uptake  
of Nuclide, etc.,)

g. Effect of radiation on microbes

(e.g. Radiation Damage, Resistivity, etc.,)

h. Model Formation

(e.g. Prediction Model for Microbial Effect on  
Geochemical Environment including the Issues  
of Nuclide Migration, Sorption, Ground Water  
Chemistry, etc.,)

Comments:

(3) What kinds of expertise are assigned to and are required for the program?

a. Currently Assigned:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others( )

b. Required Assignees:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others( )

Comments:

(4) What kinds of microbe did you confirm the existence in ground water or in soil?

(5) Could you give us your test site name, location, depth, and its(their) type of rock where you took water(soil) sample related to the above (4) question.

- (6) What kinds of sampler is adapted for the collection of groundwater and/or soil? Any development did you need to take an undisturbed sample from underground in order to avoid contamination?
- (7) What microbial activities are required to evaluate from the viewpoint of safety analysis for nuclear waste disposal? Please collect the 5 highest priority.  
(e.g. Alteration of groundwater chemistry, Radionuclide uptake, etc.,)
- (8) What kinds(species) of microbe are required to study for their activity in underground and/or disposal site for nuclear waste?

(9) Are you now performing hot test (using radioactive nuclides) to investigate the microbial activity or do you have any plans to use radioactive nuclides in your study?

a. Currently : Yes/No

b. Plans : Yes/No

Comments:

(10) What kinds of hot test do you plan now and/or what kinds of hot test are required to perform to study the microbial activity for the nuclear waste disposal program?

And the following questions are miscellaneous issues of the biological activity in nuclear waste management.

3. Miscellaneous

(1) What do you think about the priority of study on microbial activity in nuclear waste disposal program.

Priority : High/Mid./Low

Comments:

(2) What kind of technology do you need to be developed for your microbes study? Please make any comments.

(3) We would very much appreciate it when you could give us recommendation of any meeting, conference, and workshop related to the microbe study in radioactive waste management.

Thank you very much.

添付資料 4.2 アンケート回答（オリジナル）・N A G R A

Parkstrasse 73  
CH-5430 Wettingen  
Tel. ++41/56-371 111  
Telex 80000 NAGRA 207  
Telefax ++41/56-371 207

**Nagra**  
Nationale  
Genossenschaft  
für die Lagerung  
radioaktiver Abfälle

**Cédra**  
Société coopérative  
nationale  
pour l'entreposage  
de déchets radioactifs

**Cisra**  
Società cooperativa  
nazionale  
per l'immagazzinamento  
di scorie radioattive

Dr. H. Asano  
I H I  
2-16, 3-Chome  
Toyo-su, Koto-Ku  
107 Tokyo / JAPAN

Ihr Zeichen:

Unser Zeichen:  
Tel. 056 / 205... McK/fo

Baden, 6 May 1991

Dear Dr. Asano,

Please find herewith a response to your questionnaire of April 15th.

Yours sincerely,

Nationale Genossenschaft  
für die Lagerung radioaktiver  
Abfälle NAGRA

  
Dr. C. McCombie  
Director  
Science & Technology

  
Dr. I. McKinley  
R&D Coordinator

Encl.

P.S.: Please note our new address as from 1 May 1991:

Nagra  
Hardstrasse 73  
5430 Wettingen - SWITZERLAND  
Tel. ++41/56-371 111; Telefax ++41/56-371 207

Response to Microbiology Questionnaire

Ian G. McKinley

1

- 1) Yes, including lab studies, modelling and natural analogues.
- 2) All types of waste are (or have been) studied but emphasis is on L/ILW.
- 3) First literature studies and scoping lab tests began more than 10 years ago.
- 4)
  - Literature studies (possible effects of microbial activity, possible use of biocides ...)
  - Lab studies (Bitumen biodegradation)
  - Field sampling (at the Grimsel underground laboratory and potential repository sites)
  - Model development.
- 5) Current status of Microbiology programme:
  - a) Lab studies of microbial activity in L/ILW near-field underway (contractor Dr. J.M. West, BGS)
  - b) Lab/literature studies of extreme alkalophiles underway (contractor Prof. R. Bachofen, Uni Zurich)
  - c) Computer model of microbial activity in repositories/waste packages being tested (contractor Dr. H. Grogan, Intera Sciences)
  - d) Natural analogue studies in Poços de Caldas (U roll front) and Jordan (hyperalkaline system) in final stages of documentation
  - e) Incorporation of microbiology in formal repository performance assessment, in planning stage.
- 6) Yes (pilot studies already carried out and documented) - for all waste types.

2

- 1) Applied - moving towards modelling and model validation.
- 2) (d), (f) and (h).
- 3) Microbiologist, ecologist, chemist, mathematical modeller, geologist, geochemist, performance assessor => all already assigned.
- 4) Vast range in the environments studied; main interest at present in oligotrophic alkalophiles. Specific groups of interest identified include SRBs, sulphur oxidisers, iron bacteria and methanogens.

答えるの

- 5)
  - 1) Grimsel test site, 450 m depth in crystalline
  - 2) N-Switzerland boreholes, surface - ~ 2000 m depth, crystalline/sediments
  - 3) Wellenberg boreholes, surface - ~ 500 m depth, sediments
  - 4) Tunnels, up to ~ 500 m overburden, sediments, crystalline, anhydrite
  - 5) Poços de Caldas, U/Th ore bodies, surface - ~ 450 m
  - 6) Oman/Jordan, hyperalkaline springs/seepages.
- 6) Wide range, from simple sample bottles (surface seeps) to pressurised down-borehole samplers.  
Contamination was shown to be inevitable; samples of contaminating fluids (e.g. surface waters/soils) used to determine the likely magnitude of this effect.
- 7)
  - Organic complexant production
  - Gas production
  - Eh/pH alteration
  - Direct uptake of radionuclides (if mobile)
  - Degradation of barrier properties (e.g. cement).
- 8)
  - Alkalophiles/Oligotrophs
  - SO / SRB
  - Metal precipitating/oxidising bacteria.

9/10) Yes, our L/ILW near-field simulations at BGS include radionuclides.

### 3

- 1) Medium, main concern is for long-lived ILW (TRU).
- 2) Measurement/modelling of microbial kinetics.
- 3) MIND group meetings. More details can be obtained from Dr. J.M. West of BGS.

07.05.91 McK/fo/kri

添付資料 4.3 アンケート回答（オリジナル）・A E C L



## AECL EACL

C-8206.1263.1  
CAM-91-091  
July 8, 1991

## AECL Research

Whitehell Laboratories  
Pinawa Manitoba  
Canada ROE 1L0  
Tel (204) 753-2311  
Fax (204) 753-8404  
Telex 063-671345

## EACL Recherche

Laboratoires de Whitehell  
Pinawa (Manitoba)  
Canada ROE 1L0  
Tél (204) 753-2311  
Fax (204) 753-8404  
Télex 063-671345

Mr. H. Asano  
Nuclear Fuel Cycle Development Dept.  
Ishikawajima-Harima Heavy Industries Ltd.  
2-16, 3-Chome, Toyosu,  
Koto-Ku  
Tokyo-135, JAPAN

Dear Mr. Asano:

Please find attached the questionnaire on the status of AECL's studies into the effect of microbiological activity on nuclear waste disposal that you provided with your letter of April 15, 1991.

AECL has resumed studies in this field only in the last 6 months, so that our activities are very much at the planning stage. For this reason I cannot provide a detailed statement on our program, both planned and underway. This will be evident to you as you review the questionnaire.

I would be interested to know more about IHI's research program on this subject. For example, are you conducting laboratory experimentation? Because we are at the planning stage of our program, we are open to the consideration of joint research activity in this field.

I would be interested to know any thoughts that you might have in this regard.

Sincerely,



C. A. McDowell, P.Eng.  
Manager  
Commercial Office  
Environmental Sciences  
and Waste Management

CAM/ty

QUESTIONNAIRE

1. General

We think the study on the microbial effect on nuclear waste repository is one of the most complicated systems to be considered for the safety analysis for nuclear waste management. So we think a deeply considered research program, which assess microbiological activiy in the disposal site, should be needed at the start of the study.

As a start of the question, we would ask you your general status of it. Please choose the answer and make your comments if necessary.

(1) Is your organization now performing any investigations and/or studys on microorganisms effect on nuclear waste disposal?

Yes /  No

Comments:

AECL Research resumed studies in this area late in 1990. Some initial investigations were conducted in the period 1979 to 1986.

If Yes, please continue on the following questions.  
If No, please start from the question 1-(5).

(2) Which type of nuclear wastes you study on about the microorganism?

LLW / ILW / HLW

Comments:

Currently our primary focus is on HLW, because we anticipate that information on microbiological activity will be required to satisfy the needs of the current Environmental Assessment Review of AECL's concept for the disposal of nuclear fuel. However the study of microbiological activity is likely relevant to all nuclear wastes.

(3) When did you begin to investigate and/or to study the field?

Just started / 5 years ago / 10 years or more ago

Comments:

See Item 1.

(4) When you began the job, what kind of work did you do as your first study?

Literature Survey / Field Sampling and Analysis /other

Comments:

Literature searches and some preliminary field and laboratory investigation were done in the period 1979 - 1986. Modelling, based on nutrient and energy sources analysis, was done in 1986.

Initial activities involved literature search and consultation with Canadian universities and government into R&D related to biological recovery of ores.

(5) Could you show us a summary of your research program for the microbiological activity? And when you would show us your current position in it, we would very much appreciated it.

(Please show them in the following column)

We are still in the process of planning our program. We would be pleased to review our plans, once they are finalized.

(6) Do you have any plans to study the microbial effects on the repository? And which type of waste is you interested in to study?

a. Yes  No

b. LLW / ILW / HLW

Comments:

The major focus of AECL's program will be studies related to the Canadian Nuclear fuel Waste Management Program (HLW), with experimentation in our Underground Research Laboratory.

Then we would like to ask you more specific item related your recent status of micoorganism study. If there are no problems, please continue to fill(check) the following questions(in case of you are now performing any research and/or have any reseach programs for geomicrobial effect on geological disposal):

2. Current Study Related

(1) What do you think the phase of your own current study on the microbial activity in your whole research program?

Preliminary/Basic/Applied

Comments:

(2) What kind of study are you doing now?

a. Preparation for a study

(e.g. Research Program Arrangement)

In progress

b. Preliminary study.

(e.g. Literature Survey)

In progress

c. Field test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification of Microbes,  
etc.,)

The initial test program is being set up.

d. Field test-2

(e.g. Study on their Phenomenon : Nuclide  
Migration, Sorption, Alteration of Ground  
Water Chemistry, etc.,)

e. Laboratory Test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification,  
Enrichment, etc.,)

f. Laboratory Test-2

(e.g. Study on their Metabolic Activity : Inter-  
action with Organic/Inorganic Materials,  
Alteration of Ground Water Chemistry, Uptake  
of Nuclide, etc.,)

g. Effect of radiation on microbes

(e.g. Radiation Damage, Resistivity, etc.,)

h. Model Formation

(e.g. Prediction Model for Microbial Effect on  
Geochemical Environment including the Issues  
of Nuclide Migration, Sorption, Ground Water  
Chemistry, etc.,)

Comments:

{  
Activities relating to items d, e, f, g, and h are planned.

(3) What kinds of expertise are assigned to and are required for the program?

a. Currently Assigned:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others (Microbiologist, Biochemist)

b. Required Assignees:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others ( )

Comments:

AECL has well developed geological, hydrogeological and biological research programs.

(4) What kinds of microbe did you confirm the existence in ground water or in soil?

Our results to date are only preliminary and we are not ready for publication. We would however, be prepared to discuss preliminary findings in an appropriate forum.

(5) Could you give us your test site name, location, depth, and its(their) type of rock where you took water(soil) sample related to the above (4) question.

See item 4 above. We intend to use our Underground Research Laboratory for our program.

(6) What kinds of sampler is adapted for the collection of groundwater and/or soil? Any development did you need to take an undisturbed sample from underground in order to avoid contamination?

Our approach has been fairly conventional in sampling. We would be interested in any Japanese developments.

(7) What microbial activities are required to evaluate from the viewpoint of safety analysis for nuclear waste disposal? Please collect the 5 highest priority.  
(e.g. Alteration of groundwater chemistry, Radionuclide uptake, etc.,)

- The redox condition of the vault pore water can be effected by microbial growth. Changing the redox condition of the vault could have a major impact on the viability of the disposal concept.
- Modification of radionuclide sorption in the geosphere is a possible result of microbial activity.

(8) What kinds(species) of microbe are required to study for their activity in underground and/or disposal site for nuclear waste?

This is a subject for further discussion.

(9) Are you now performing hot test (using radioactive nuclides) to investigate the microbial activity or do you have any plans to use radioactive nuclides in your study?

a. Currently : Yes/No

b. Plans : Yes/~~No~~

Comments:

AECL currently plans to investigate the effect of microbes on radionuclide sorption and subsequently we plan migration studies.

(10) What kinds of hot test do you plan now and/or what kinds of hot test are required to perform to study the microbial activity for the nuclear waste disposal program?

This subject is currently under consideration.

For actinides, hot tests are considered essential. For other radionuclides, radioactive isotopes are preferred, to facilitate analysis.

And the following questions are miscellaneous issues of the biological activity in nuclear waste management.

### 3. Miscellaneous

- (1) What do you think about the priority of study on microbial activity in nuclear waste disposal program.

Priority : High/Mid./Low

#### Comments:

Questions have been raised regarding the impact of microbes on the safety of nuclear disposal activities. Because this subject has not received much attention to date, it will likely have medium to high priority in the near term.

- (2) What kind of technology do you need to be developed for your microbes study? Please make any comments.

Improvements to field sampling techniques and hardware would be useful.

- (3) We would very much appreciate it when you could give us recommendation of any meeting, conference, and workshop related to the microbe study in radioactive waste management.

Reference material on the 3<sup>rd</sup> Meeting of the International Group MIND (Micro-organisms in Nuclear Waste Disposal) is attached. This group plans to meet every two years.

Thank you very much.

添付資料 4.4 アンケート回答（オリジナル）・H a r w e l l

AEA TECHNOLOGY  
D&R BUSINESS  
EXPERIMENTAL STUDIES DEPARTMENT  
BUILDING 220.23  
HARWELL LABORATORY  
OXFORDSHIRE OX11 0RA

DATE: 14 MAY 1991

FACSIMILE TRANSMISSION

ABINGDON (0235) 43 4835

ENQUIRIES ????????:	:	TEL ABINGDON
(0235) 821111		EXT: 5801

PAGES TO FOLLOW: 9

FROM: DR JOHN A BERRY, HARWELL LABORATORY, UK

TO: MR HIDEKAZU ASANO, TOYOSU OFFICE, JAPAN

MESSAGE:



**AEA DECOMMISSIONING  
& RADWASTE**

Radwaste Disposal Division

**AEA TECHNOLOGY**

Experimental Studies Department  
Harwell Laboratory  
Oxfordshire OX11 0RA  
Telex: 83135 ATOMHA G  
Telephone: (0235) 821111 5801  
Facsimile Number: 0235 434835

14 May 1991

Mr Hidekazu Asano  
Nuclear Fuel Cycle Development Department  
Ishikawajima-Harima Heavy Industries Co Ltd  
Toyosu Office  
3-2-16 Toyosu  
Koto-ku  
Tokyo 135  
Japan

Dear Mr Asano

I am returning your questionnaire which has been completed for me by a senior colleague who works in the field of microbial activity. I am not personally involved in this area of research.

The answers are as complete as we can give since details of our studies are restricted by Commercial Confidentiality arrangements with our customers.

With best regards

*Shokunai*

*fcr*

Dr John A Berry

QUESTIONNAIRE

1. General

We think the study on the microbial effect on nuclear waste repository is one of the most complicated systems to be considered for the safety analysis for nuclear waste management. So we think a deeply considered research program, which assess microbiological activiy in the disposal site, should be needed at the start of the study.

As a start of the question, we would ask you your general status of it. Please choose the answer and make your comments if necessary.

(1) Is your organization now performing any investigations and/or studys on microorganisms effect on nuclear waste disposal?

Yes / No

Comments:

If Yes, please cintinue on the following questions.

If No, please start from the question 1-(5).

(2) Which type of nuclear wastes you study on about the microorganism?

LLW / HLW / RW

Comments:

(3) When did you begin to investigate and/or to study the field?

XXXXXX / 5 years ago / XXXXXXXXXX ago

Comments:

(4) When you began the job, what kind of work did you do as your first study?

Literature Survey / XXXXXXXX / XXXXXXXX / XXXXXXXX

Comments:

(5) Could you show us a summary of your research program for the microbiological activity? And when you would show us your current position in it, we would very much appreciated it.

(Please show them in the following column)

PRESENT POSITION:

- (1) Will Microbes survive in a repository
- (2) What are the main effects
- (3) What is the magnitude of these effects

(6) Do you have any plans to study the microbial effects on the repository? And which type of waste is you interested in to study?

- a. Yes /  No
- b. LLW /  HLW /  EW

Comments:

Then we would like to ask you more specific item related your recent status of microorganism study. If there are no problems, please continue to fill(check) the following questions(in case of you are now performing any research and/or have any research programs for geomicrobial effect on geological disposal):

## 2. Current Study Related

(1) What do you think the phase of your own current study on the microbial activity in your whole research program?

Basic /  Applied

Comments:

(2) What kind of study are you doing now?

a. Preparation for a study

(e.g. Research Program Arrangement)

b. Preliminary study.

(e.g. Literature Survey)

c. Field test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification of Microbes,  
etc.,)

d. Field test-2

(e.g. Study on their Phenomenon : Nuclide  
Migration, Sorption, Alteration of Ground  
Water Chemistry, etc.,)

e. Laboratory Test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification,  
Enrichment, etc.,)

f. Laboratory Test-2

(e.g. Study on their Metabolic Activity : Inter-  
action with Organic/Inorganic Materials,  
Alteration of Ground Water Chemistry, Uptake  
of Nuclide, etc.,)

g. Effect of radiation on microbes

(e.g. Radiation Damage, Resistivity, etc.,)

h. Model Formation

(e.g. Prediction Model for Microbial Effect on  
Geochemical Environment including the Issues  
of Nuclide Migration, Sorption, Ground Water  
Chemistry, etc.,)

Comments:

P N C Z N8410 92-013

P N C Z N8410 92-013

(3) What kinds of expertise are assigned to and are required for the program?

a. Currently Assigned:

XXXXXXXXXX/Biologist/XXXXXXXXXXXXX/Chemist  
XXXXXXXXXX/Others (Modellists )

b. Required Assignees:

XXXXXXXXXX/Biologist/XXXXXXXXXXXXX/Chemist  
XXXXXXXXXX/Others (Modellists )

Comments:

(4) What kinds of microbe did you confirm the existence in ground water or in soil?

(5) Could you give us your test site name, location, depth, and its(their) type of rock where you took water(soil) sample related to the above (4) question.

- (6) What kinds of sampler is adapted for the collection of groundwater and/or soil? Any development did you need to take an undisturbed sample from underground in order to avoid contamination?
- (7) What microbial activities are required to evaluate from the viewpoint of safety analysis for nuclear waste disposal? Please collect the 5 highest priority.  
(e.g. Alteration of groundwater chemistry, Radionuclide uptake, etc.,)
- (8) What kinds(species) of microbe are required to study for their activity in underground and/or disposal site for nuclear waste?

(9) Are you now performing hot test (using radioactive nuclides) to investigate the microbial activity or do you have any plans to use radioactive nuclides in your study?

a. Currently : Yes/~~No~~

b. Plans : Yes/No

Comments:

(10) What kinds of hot test do you plan now and/or what kinds of hot test are required to perform to study the microbial activity for the nuclear waste disposal program?

Effects on Solubility of Plutonium

And the following questions are miscellaneous issues of the biological activity in nuclear waste management.

3. Miscellaneous

(1) What do you think about the priority of study on microbial activity in nuclear waste disposal program.

Priority : ~~Very~~/Mid./~~Now~~

Comments:

(2) What kind of technology do you need to be developed for your microbes study? Please make any comments.

(3) We would very much appreciate it when you could give us recommendation of any meeting, conference, and workshop related to the microbe study in radioactive waste management.

MIND Workshop organised by Nick Christofi of Napier College, Edinburgh

添付資料 4.5 アンケート回答（オリジナル）・C E A

添付資料 4.6 アンケート回答（オリジナル）・M o 1

添付資料 4.7 アンケート回答（オリジナル）・P N L



Pacific Northwest Laboratories  
Battelle Boulevard  
P.O. Box 999  
Richland, Washington 99352  
Telephone (509) 376-8314

October 14, 1991

Mr. Hidekazu Asano  
Nuclear Fuel Cycle Development Department  
Ishikawajima-Harima Heavy Industries Co., Ltd.  
Toyosu Office  
3-2-16 Toyosu, Koto-ku  
Tokyo 135  
Japan

Dear Mr. Asano:

Thank you for your inquiry concerning Battelle's research activities on microbial effects on waste disposal. I am enclosing the questionnaire that you requested we complete, and I am also enclosing some scientific reprints that may be of interest.

If you have an interest in using Battelle's expertise and capabilities related to microbiological research and development, please feel free to contact my office.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "M.J. Graham".

Michael J. Graham  
Deputy Manager  
Earth & Environmental Sciences

MJG:ek

Enc.

QUESTIONNAIRE

1. General

We think the study on the microbial effect on nuclear waste repository is one of the most complicated systems to be considered for the safety analysis for nuclear waste management. So we think a deeply considered research program, which assess microbiological activity in the disposal site, should be needed at the start of the study.

As a start of the question, we would ask you your general status of it. Please choose the answer and make your comments if necessary.

(1) Is your organization now performing any investigations and/or studies on microorganisms effect on nuclear waste disposal?

Yes / No

Comments: Battelle, Pacific Northwest Laboratory is performing basic scientific research and process development for bioremediation of contaminated subsurface environments and characterization for nuclear waste disposal.

If Yes, please continue on the following questions.

If No, please start from the question 1-(5).

(2) Which type of nuclear wastes you study on about the microorganism?

LLW / ILW / HLW

Comments: At the Hanford site, Battelle, Pacific Northwest Laboratory is studying all radioactive waste forms.

(3) When did you begin to investigate and/or to study the field?

Just started / 5 years ago / 10 years or more  
ago

*4/1982* *11/1982*  
**Comments:** Fundamental investigations of soil-plant, ground-water, and river ecosystems relative to nuclear waste disposal has been ongoing for over twenty years at Battelle, Pacific Northwest Laboratory.

(4) When you began the job, what kind of work did you do as your first study?

Literature Survey / Field Sampling and Analysis  
/other

**Comments:**

(5) Could you show us a summary of your research program for the microbiological activity? And when you would show us your current position in it, we would very much appreciated it.

(Please show them in the following column)

Specific results of research programs for microbiological activity in relation to waste depositories is not readily available.

(6) Do you have any plans to study the microbial effects on the repository? And which type of waste is you interested in to study?

- a. Yes / No  
 b. LLW / ILW / HLW

Comments: Planning activities include requests to U. S. government to support research on long-term integrity of barriers.

Then we would like to ask you more specific item related your recent status of micoorganism study. If there are no problems, please continue to fill(check) the followimg questions(in case of you are now performing any research and/or have any reseach programs for geomicrobial effect on geological disposal):

## 2. Current Study Related

(1) What do you think the phase of your own current study on the microbial activity in your whole research program?

Preliminary / Basic / Applied

Comments:

(2) What kind of study are you doing now?

- a Preparation for a study  
(e.g. Research Program Arrangement)
- b. Preliminary study.  
(e.g. Literature Survey)
- c. Field test-1  
(e.g. Sampling, Count, Identification of Microbes,  
etc.,)
- d. Field test-2  
(e.g. Study on their Phenomenon : Nuclide  
Migration, Sorption, Alteration of Ground  
Water Chemistry, etc.,)
- e. Laboratory Test-1  
(e.g. Sampling, Count, Identification,  
Enrichment, etc.,)  
Asphalt degradation studies.
- f. Laboratory Test-2  
(e.g. Study on their Metabolic Activity : Inter-  
action with Organic/Inorganic Materials,  
Alteration of Ground Water Chemistry, Uptake  
of Nuclide, etc.,)  
Uptake of selected radionuclides by subsurface microorganisms
- g. Effect of radiation on microbes  
(e.g. Radiation Damage, Resistivity, etc.,)
- h. Model Formation  
(e.g. Prediction Model for Microbial Effect on  
Geochemical Environment including the Issues  
of Nuclide Migration, Sorption, Ground Water  
Chemistry, etc.,)

Comments:

(3) What kinds of expertise are assigned to and are required for the program?

a. Currently Assigned:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others( )

b. Required Assignees:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others( )

Comments:

(4) What kinds of microbe did you confirm the existence in ground water or in soil?

Please refer to the enclosed reprinted scientific articles.

(5) Could you give us your test site name, location, depth, and its(their) type of rock where you took water(soil) sample related to the above (4) question.

Please refer to the enclosed reprinted scientific articles.

(6) What kinds of sampler is adapted for the collection of groundwater and/or soil? Any development did you need to take an undisturbed sample from underground in order to avoid contamination?

A split-spoon sampling device and associated methods were developed specifically to ensure aseptic sampling and handling of subsurface core samples.

(7) What microbial activities are required to evaluate from the viewpoint of safety analysis for nuclear waste disposal? Please collect the 5 highest priority.  
(e.g. Alteration of groundwater chemistry, Radionuclide uptake, etc.,)

1. Metabolic potential
2. Influence on heavy metal and radionuclide mobility.
3. Degradation of chelators and solvents.
4. Degradation of barrier materials.
5. Alteration of groundwater chemistry.

(8) What kinds(species) of microbe are required to study for their activity in underground and/or disposal site for nuclear waste?

Functional groups of microorganisms and total microbial communities are more important than taxonomic representation.

(9) Are you now performing hot test (using radioactive nuclides) to investigate the microbial activity or do you have any plans to use radioactive nuclides in your study?

a. Currently : Yes/No

b. Plans : Yes/No

Comments:

Currently investigating radionuclide uptake by subsurface microorganisms.

(10) What kinds of hot test do you plan now and/or what kinds of hot test are required to perform to study the microbial activity for the nuclear waste disposal program?

Intermediate-scale laboratory studies to determine the fate and mobility of radionuclides in heterogeneous systems.

And the following questions are miscellaneous issues of the biological activity in nuclear waste management.

3. Miscellaneous

- (1) What do you think about the priority of study on microbial activity in nuclear waste disposal program.

Priority : High/Mid./Low

Comments: Long-term integrity of waste disposal sites must include design for resistance to microbial degradation.

- (2) What kind of technology do you need to be developed for your microbes study? Please make any comments.

Standard biotreatability protocols for mixed wastes.

- (3) We would very much appreciate it when you could give us recommendation of any meeting, conference, and workshop related to the microbe study in radioactive waste management.

Thank you very much.

添付資料 4.8 アンケート回答（オリジナル）・SKB



## TELEFAX

Till: Företag Company I H I  
 To: Telefax no 09981 3 3534 3090  
 Attention: Mr HIDEKAZU ASANO

Avsändare Fred Karlsson  
 From  
 Datum 1991-07-31  
 Date  
 Antal sidor 1 + 8 Om någon sida fattas, ring  
 Pages If you do not receive all pages,  
 please call +46 8 665 28 00

Meddelande  
 Message Dear Mr H Asano  
 On behalf of Din P-E Ahlström  
 I have tried to answer your  
 questionnaire cons. microbial  
 activities.  
 My appologies for the late answer  
 and hoping to give you adequate  
 information

Yours Fred Karlsson

Swedish Nuclear Fuel and Waste Management Co  
 Svensk Kärnbränslehantering AB, Box 5864, S-102 48 Stockholm, Sweden  
 Phone: +46 8 665 28 00, Telefax: +46 8 661 57 19, Telex: 13108 skb

QUESTIONNAIRE

1.General

We think the study on the microbial effect on nuclear waste repository is one of the most complicated systems to be considered for the safety analysis for nuclear waste management. So we think a deeply considered research program, which assess microbiological activiy in the disposal site, should be needed at the start of the study.

As a start of the question, we would ask you your general status of it. Please choose the answer and make your comments if necessary.

(1) Is your organization now performing any investigations and/or studys on microorganisms effect on nuclear waste disposal?

Yes / No

Comments:

If Yes, please cintinue on the following questions.

If No, please start from the question 1-(5).

(2) Which type of nuclear wastes you study on about the microorganism?

LLW / ILW / HLW

Comments:

Studies on LLW & ILW have been performed  
A L HLW are ongoing

(1) When did you begin to investigate and/or to study the field?

Just started / 5 years ago / 10 years or more  
ago

Comments:

\* When you began the job, what kind of work did you do as you first study?

Literature Survey / Field Sampling and Analysis  
other

Comments:

\* ...? - Show us a summary of your research program  
\* ... \* microbiological activity? And when you would  
\* ... \* your current position in it, we would very much  
\* ... \* like to see it.  
\* ... \* other in the following column)

We can send you a set of our  
annual reports to begin with  
Would that be adequate for you?  
Please confirm

(6) Do you have any plans to study the microbial effects on the repository? And which type of waste is you interested in to study?

- a. Yes / No
- b. LLW / ILW / HLW

Comments: We consider the HLW & ILW more or less finished.

Then we would like to ask you more specific item related your recent status of micoorganism study. If there are no problems, please continue to fill(check) the following questions(in case of you are now performing any research and/or have any reseach programs for geomicrobial effect on geological disposal):

## 2. Current Study Related

(1) What do you think the phase of your own current study on the microbial activity in your whole research program?

Preliminary/Basic/Applied

Comments:

(2) What kind of study are you doing now?

a. Preparation for a study

(e.g. Research Program Arrangement)

b. Preliminary study.

(e.g. Literature Survey)

X c. Field test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification of Microbes,  
etc.,)

d. Field test-2

(e.g. Study on their Phenomenon : Nuclide  
Migration, Sorption, Alteration of Ground  
Water Chemistry, etc.,)

X e. Laboratory Test-1

(e.g. Sampling, Count, Identification,  
Enrichment, etc.,)

X f. Laboratory Test-2

(e.g. Study on their Metabolic Activity : Inter-  
action with Organic/Inorganic Materials,  
Alteration of Ground Water Chemistry, Uptake  
of Nuclide, etc.,)

g. Effect of radiation on microbes

(e.g. Radiation Damage, Resistivity, etc.,)

h. Model Formation (*to some extent*)

(e.g. Prediction Model for Microbial Effect on  
Geochemical Environment including the Issues  
of Nuclide Migration, Sorption, Ground Water  
Chemistry, etc.,)

Comments:

(3) What kinds of expertise are assigned to and are required for the program?

a. Currently Assigned:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others( )

b. Required Assignees:

Geologist/Biologist/Physiologist/Chemist  
Physicist/Others( )

Comments:

(4) What kinds of microbe did you confirm the existence in ground water or in soil?

methanogenic and sulphate reducing bacteria

(5) Could you give us your test site name, location, depth, and its(their) type of rock where you took water(soil) sample related to the above (4) question.

Ärvö, Åspö, land Laxemar and Stripa  
The deepest samples below 800m  
Granitic rock

- (6) What kinds of sampler is adapted for the collection of groundwater and/or soil? Any development did you need to take an undisturbed sample from underground in order to avoid contamination?

A special equipment was developed in order to obtain undisturbed groundwater samples from packed off sections in core drilled boreholes down to a maximum depth of about 1000m.

- (7) What microbial activities are required to evaluate from the viewpoint of safety analysis for nuclear waste disposal? Please collect the 5 highest priority.  
(e.g. Alteration of groundwater chemistry, Radionuclide uptake, etc.,)

The two examples you mention are well chosen for HLW. For ILW & LLW you may consider to add: gas generation and creation of complex forming agents.

- (8) What kinds(species) of microbe are required to study for their activity in underground and/or disposal site for nuclear waste?

That depends on the chemical environment what kind of microbial life it can sustain. It also depends on the potential adverse effects on the waste that have to be assessed

(9) Are you now performing hot test (using radioactive nuclides) to investigate the microbial activity or do you have any plans to use radioactive nuclides in your study?

a. Currently : Yes/No

b. Plans : Yes/No

Comments: Uptake of radionuclides on  
microbes are being investigated

(10) What kinds of hot test do you plan now and/or what kinds of hot test are required to perform to study the microbial activity for the nuclear waste disposal program?

In situ tests are being  
contemplated

And the following questions are miscellaneous issues of the biological activity in nuclear waste management.

3. Miscellaneous

- (1) What do you think about the priority of study on microbial activity in nuclear waste disposal program.

Priority : High/Mid./Low

Comments:

- (2) What kind of technology do you need to be developed for your microbes study? Please make any comments.

Equipment for in situ experiments

- (3) We would very much appreciate it when you could give us recommendation of any meeting, conference, and workshop related to the microbe study in radioactive waste management.

Informal meetings have been held  
Maybe you should ask

Dr N Christofi  
Pollution Res. Unit  
Napier Polytechnic  
10 Colinton Rd  
EDINBURGH EH10 5DT  
Scotland

Thank you very much.

P N C Z N 8410 92-013

P N C Z N 8410 92-013

添付資料 4.9 Meeting Program

3rd Meeting of the International Group MIND

-Microorganisms in Nuclear Waste Disposal-

Edinburgh, Scotland, September 12-14, 1990

(AECL より)

NAPIER POLYTECHNIC  
POLLUTION RESEARCH UNIT  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES

3rd Meeting of the International Group MIND  
- Microorganisms in Nuclear Waste Disposal -  
Edinburgh, Scotland, September 12-14, 1990

Venue: Boardroom, Craiglockhart Campus, Napier Polytechnic, 219 Colinton Road, Edinburgh EH14 1DJ

Sponsor: UK NIREX LTD

Wednesday 12 September 1990

Agenda

Morning Session

09.30	Coffee	
09.50	Welcome Address:	Professor K J Anderson, Depute Principal, Napier Polytechnic, UK
10.00	General Information/ Introduction	Nick Christofi, Napier Polytechnic, UK
10.15	Resume of Second MIND Meeting held in Stockholm, 1988	Anita McCabe, Nuclear Electric, UK
10.45	Coffee	
11.00	Objectives of the Third MIND Meeting NIREX Viewpoint	Nick Christofi, Napier Polytechnic, UK Ainsley Francis, UK NIREX Ltd, UK
11.45	Summary of participants' recent activities	All/ <u>Most</u> delegates
12.30	Lunch	

NAPIER POLYTECHNIC  
POLLUTION RESEARCH UNIT  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES

3rd Meeting of the International Group MTND  
- Microorganisms in Nuclear Waste Disposal -  
Edinburgh, Scotland, September 12-14, 1990

Venue: Boardroom, Craiglockhart Campus, Napier Polytechnic, 219 Colinton Road, Edinburgh EH14 1DJ

Wednesday 12 September 1990

Agenda

Afternoon Session

- |       |   |   |
|-------|---|---|
| 14.00 | US Experience in Deep Subsurface Microbiology - overview of DOE Deep Microbiology Program             | Frank Wobber, Department of Energy, USA       |
| 14.45 | Comparative Deep Microbiology - Preliminary Results from the DOE Research in South Carolina and Idaho | David Balkwill, Florida State University, USA |
| 15.30 | Coffee  |   |

RESEARCH PROGRAMMES

Chairperson: Helen Grogan, INTERA-ECL, UK

- |       |   |  |
|-------|---|--|
| 16.00 | The Status of the Swiss Microbiology programmes   | Helen Grogan, INTERA-ECL, UK             |
| 16.30 | The potential for microbial life in a Canadian high-level nuclear fuel disposal vault - a nutrient and energy source analysis | Simcha Stroes-Gascoyne, AECL Ltd, Canada |

NAPIER POLYTECHNIC  
POLLUTION RESEARCH UNIT  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES

3rd Meeting of the International Group MIND  
- Microorganisms in Nuclear Waste Disposal -  
Edinburgh, Scotland, September 12-14, 1990

Venue: Boardroom, Craiglockhart Campus, Napier Polytechnic, 219 Colinton Road, Edinburgh EH14 1DJ

Thursday 13 September 1990

Agenda

Morning Session

	<u>EXPERIMENTAL TECHNIQUES</u>	Chairperson: Nick Christofi, Napier Polytechnic, UK
09.00	Black-box Microcosms in Studying Microbial Effects	Julia West, British Geological Survey, UK
09.30	Mechanisms of Anaerobic Microbial Transformations of Uranium in Mixed Wastes	A J Francis, Brookhaven National Laboratory, USA
10.00	Physiological studies with alkalophilic microorganisms	Reinhard Bachofen, University of Zurich, Switzerland
10.20	Modelling of bacterial dynamics in Swiss L/LW repositories - the tale of homogeneity	H Arter, University of Zurich, Switzerland
10.40	Coffee	
11.00	Microbiological Research in Support of the UK NIREEX Safety Assessment	Alan Rosevears, AERE, Harwell, UK
11.30	Microbial Degradation of Bitumen and L/LW wastes in a Deep Repository	Nadia Langomazino, CEC Cadarache, France
12.00	Evaluation of Cement Degradation induced by metabolic products of heterotrophic and autotrophic microorganisms	Josée Perfettini, Centre d'Etude Nucleaires de Fontenoy, France
12.30	Lunch	

NAPIER POLYTECHNIC  
POLLUTION RESEARCH UNIT  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES

3rd Meeting of the International Group MIND  
- Microorganisms in Nuclear Waste Disposal -  
Edinburgh, Scotland, September 12-14, 1990

Venue: Boardroom, Craiglockhart Campus, Napier Polytechnic, 219 Colinton Road, Edinburgh EH14 1DJ

Thursday 13 September 1990

Agenda:

Afternoon Session

DISCUSSIONS

14.00	How do experimental results fit into release/migration models	Discussion Leader: Mike Thorne, Elektrowatt, UK
	Gaps in experimental work	Discussion Leader: S. Stroes-Gascoyne, AECL Ltd, Canada
15.30	Coffee	
15.45	Analogue systems	Discussion Leader: Julia West, BGS
	:	
21.00	Meeting Dinner	Loon Fung Cantonese Restaurant, 32 Grindlay Street, Edinburgh

NAPIER POLYTECHNIC  
POLLUTION RESEARCH UNIT  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES

3rd Meeting of the International Group MIND  
- Microorganisms in Nuclear Waste Disposal -  
Edinburgh, Scotland, September 12-14, 1990

Venue: Boardroom, Craiglockhart Campus, Napier Polytechnic, 219 Colinton Road, Edinburgh EH14 1DJ

Friday 14 September 1990

Morning Session

09.00	<u>The Way Forward</u>	Discussion Leaders: A J Francis, UK NIREX Ltd, UK A Rosevears, AERE, Harwell, UK
10.40	Coffee	
11.00	Further Discussion and Summary	
12.30	Lunch	

END OF MEETING

NAPIER POLYTECHNIC  
POLLUTION RESEARCH UNIT  
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCES

3rd Meeting of the International Group MIND  
Edinburgh, Scotland, September 12-14 1990

Delegate List

Dr H Arter	University of Zurich, Switzerland
Prof Reinhard Bachofen	University of Zurich, Switzerland
Dr David Balkwill	Florida State University, USA
Dr Nick Christofi	Napier Polytechnic, UK
Mr Kevin Clayton	British Nuclear Fuels Plc, UK
Dr David Coutts	Harwell Laboratory, UK
Dr David Dickson	Elektrowatt Engineering Services Ltd, UK
Miss Ainsley J Francis	UK NIREX Ltd, UK
Dr Arokiasamy J Francis	Brookhaven National Laboratory, USA
Dr Helen Grogan	Intera ECL, UK
Dr Nadia Langomazino	Centres d'Etude Nucleaires, France
Dr Anita McCabe	Nuclear Electric, UK
Dr Josee Perfettini	Centres d'Etude Nucleaires, France
Dr Tom Preston	Scottish Universities Research and Reactor Centre, UK
Ms Carol Robson	Napier Polytechnic, UK
Dr Alan Rosevear	Harwell Laboratory, UK
Dr Simcha Stroes-Gascoyne	Atomic Energy of Canada Ltd, Canada
Dr Andrew Vinten	East of Scotland College of Agriculture, UK
Dr Julia West	British Geological Survey, UK
Dr David Widdowson	University of Leicester, UK
Dr Frank Wobber	Department of Energy, USA
Dr Martin Wood	Reading University, UK

Table 1 : Discussion Topics Summary of 2<sup>nd</sup> MIND mtg  
Stockholm May 1982

Near-field (Substrate driven programme)		
Substrate	Degradation rates	By-products
Concrete	Work underway	Work underway
Steel	Not important as far as seems apparent	work done by chemists
Organics:		
Ion exchange resins	Not important	Gap in MIND work
Cellulose	Work underway	Work underway
Bitumen	Work underway	Work underway
Condensation polymers	Not important	Gap in MIND work
Additives, detergents )	Gap in MIND work	Gap in MIND work
Decontamination agents)		Work underway
Empirical black box experiments		Gas production studies
 Far-Field Studies		
Sorption onto microbes		Work underway
Microbial effects on sorption		Work underway
Microbial complexing agents		Heavy metal uptake work underway
Desorption effects		Work underway
Dissolution effects		Work underway
Synthetic complexing agents		Gap in MIND work
Empirical black box studies		Gap in MIND group
Field experiments		Work underway

Table 2 : Focus of future work (as determined at 2<sup>nd</sup> MIND mtg)

- 1.1 Natural analogue studies particularly of the redox front at Pacos de Caldas.
- 1.2 Rates of production of metal complexing agents by bacteria and fungi.
- 1.3 Adsorption of trace elements and subsequent mineralisation on microbial surfaces.
- 1.4 Transport of trace metals bound to microorganisms.
- 1.5 The importance of biofilms.
- 1.6 Biodegradation of metal complexes with organic ligands.
- 1.7 Interactions between organic materials and cement.
- 1.8 Development of microbial models.

## THE DEEP REPOSITORY ENVIRONMENT

Ainsley Francis  
Research and Development, UK Nirex Ltd

UK Nirex Ltd (Nirex) was set up by the nuclear industry with the agreement of the government to carry out the national strategy for the disposal of solid low (LLW) and intermediate level (ILW) radioactive waste. Nirex's intention is to dispose of both categories of waste in a repository built deep underground.

Two sites, the Sellafield site in Cumbria owned by British Nuclear Fuels and the Dounreay site in Caithness owned by the Atomic Energy Authority are being investigated as potential sites for the deep repository.

Wastes will be packaged and stored prior to disposal. The composition of the wastes varies widely. The repository is likely to be constructed in hard rock at a depth of 500m to 1000m. Packaged waste will be disposed of in vaults accessed by shafts and transfer tunnels.

Waste packages will experience a range of conditions in terms of temperature, pH, Eh and the availability of free oxygen and water during repository operation and post closure.

Degradation of the wastes will occur through the processes of metal corrosion, alkaline hydrolysis, microbial action and of less importance radiation.

THE POTENTIAL FOR MICROBIAL LIFE IN A CANADIAN HIGH-LEVEL NUCLEAR FUEL  
WASTE DISPOSAL VAULT: A NUTRIENT AND ENERGY SOURCE ANALYSIS

by

S. Stroes-Gascoyne

Recent studies have shown that microbial contamination of a nuclear fuel waste disposal vault is inevitable. Factors that will affect the development of a substantial population of micro-organisms include physiological tolerance of microbes, fluid movement in a vault, availability of nutrients, and availability of energy sources.

It is difficult to resolve whether microbial growth will either positively or negatively affect the performance of a vault. One of the necessary steps towards ultimately answering this question is to assess the potential for microbial growth in a disposal vault based on a nutrient and energy budget. This paper gives a quantitative (but conservative) inventory of nutrients and potential energy sources present in a conceptual Canadian nuclear fuel waste disposal vault. Maximum population densities have been calculated based on these inventories and assuming that all conditions for microbial growth are optimal, although this will certainly not be the case. Preliminary laboratory studies under simulated vault conditions have been performed in an attempt to establish realistic boundaries for the calculated numbers. Initial results from these studies, combined with data from a natural analogue site, indicate that the calculated population densities in solution could be overestimated by four to five orders of magnitude. Limited data show that the presence of microbes has no effect on the transport of Tc, I and Sr in backfill sand columns.

---

MICROBIOLOGICAL RESEARCH IN SUPPORT OF THE NIREX SAFETY ASSESSMENT

Alan Rosevear  
AEA Environment and Energy, Harwell Laboratory.

The Nirex programme at Harwell is considering the effect of microbial action on the repository near field. Environmental conditions in the waste will be extreme compared with that normally encountered in soil or domestic landfill i.e. high pH, poor availability of nutrients, low water activity. However, experimental work has illustrated that the organic material in the waste will be attacked in a manner which is not qualitatively different from that of commonly encountered situations. In particular, alkalitolerant organisms able to survive both aerobic and anaerobic conditions have been identified in the normal environment and soil has proved to be an adequate source of mixed consortia of degradative microbes. In addition it is proposed that the heterogeneity of the waste will create environmental niches which are temporarily insulated from the more extreme conditions. However, the absence of putrescible material will slow the rate of microbial degradation compared with landfill waste.

Present indications are that the effects of microbial action on gas production, acid formation and complexation will not be more significant than those already allowed for in consideration of chemical processes. A comprehensive model linking substrate availability, microbial growth and final partitioning of the carbon between gas, soluble organics and insoluble materials has been used to predict evolution of a repository. The degree to which the assumptions on homogeneity and availability of nutrients in the waste influence the development of the system will be addressed in the future studies.

13/8/90  
MIND 100 E1

1

MICROBIAL DEGRADATION OF BITUMEN AND ILL waste forms.

A blown bitumen Mxpathalte R 90/40 with a high saturates content subjected to the action of several microorganisms was degraded in a same extent. In batch conditions, maximal biodegradation was estimated to about 9 % W/W,  $3,2 \cdot 10^{-3}$  g/cm<sup>2</sup> and  $3,1 \cdot 10^{-3}$  cm of degraded bitumen from *Saccharomyces lipolytica* data. The Mxpathalte R90/40 degradation rate, monitored by CO<sub>2</sub> release was closely linked with a biofilm formation. The microbial activity leads mainly to a n-saturates oxidation. A direct distillation bitumen 80/100 with a low saturates content and high aromatics and resins contents presented a resistance to the biodegradation.

The qualitative assessment of the matrix resistance, with regards to the ASTM G21 and G22 standards modified in the laboratory by means of the introduction of more specific microorganisms shows that :

- The MR 90/40 bitumen is not resistant to bacterial attack. Nine out of eleven strains have given a positive response.
- The M 80/100 bitumen appears to be resistant to bacterial attack, since all the tested strains provide no significant microbial development.
- The STE3 LA HAGUE MR 90/40 sludge coating can be considered as non-biodegradable in the sense that sludges present and freed in the culture medium partially inhibit bacterial growth. The M 80/100 coating is resistant to bacterial degradation.

Studies in continuous culture conditions on bitumen and waste forms are in progress -

**EVALUATION OF THE CEMENT DEGRADATION INDUCED BY THE  
METABOLIC PRODUCTS OF MICROBIAL STRAINS**

J. PERFETTINI, E. REVERTEGAT, N. LANGOMAZINO

During their metabolism, microorganisms can produce acids able to induce the degradation of cement (Ordinary Portland Cement) used as packaging matrix for radioactive wastes.

Three acidifying but alkalophilic strains have been isolated from a soil sample : one bacterium, a *Pseudomonas*, and two fungi, an *Aspergillus niger* and a *Mycelia sterila*.

These strains produce organic acids during the decomposition of glucose. The degradation of cement caused by these microbial cultures during eleven months, has been assessed by measuring the leaching of elements (Al, Ca, Si) from the structure, the dissolution of portlandite crystals ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), the change in porosity and in bending strength. The results obtained are presented below :

	<i>Pseudomonas</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Mycelia</i>
Acids (mmol)	Formic 7,85 Lactic 7,16 Acetic 4,75 Gluconic 4,37	Oxalic 19,61 Gluconic 5,87	Malic 10,23 Gluconic 5,61
Al leached (%)	0,13	0,28	0,76
Ca leached (%)	1,18	2,46	4,19
Si leached (%)	0,44	0,64	1,23
$\text{Ca}(\text{OH})_2$ dissolved	36%	80%	74%
Porosity	+8,5%	+11,4%	+11%
Bending strength	50%	-78%	-62%

Another kind of experiments is now performing : samples of various cement (OPC, CLC) are plunged (for one year) into the culture medium of heterotrophic (*Aspergillus* and *Trichoderma*) or autotrophic (*Thiobacillus*) microorganisms. These microorganisms produce organic acids or sulfuric acid and the degradation caused is going to be measured.

本報告書は、石川島播磨重工業株式会社が動力炉・核燃料開発事業団との契約により実施した業務の成果である。